UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II
U.E.R. DE PHARMACIE

1974 - THÈSE N° 685

PARASITISME ET GLUCOCORTICOSTEROIDES AU COURS DE L'INFESTATION PRIMAIRE DU RAT MALE PAR « STRONGYLOIDES RATTI »

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

MENTION PHARMACIE

PAR

Francis CARCENAC

né à Belvès (Dordogne) le 12 juillet 1947

Présentée et soutenue publiquement le vendredi 27 septembre 1974 :

Examinateurs de la thèse :

MM. J. BAILENGER, Professeur ..... *Président.*
G. MAYER, Professeur .....
R. PAUTRIZEL, Professeur .....
R. CROCKETT, Professeur ..... *Juges.*
J. TRIBOULEY, Maître de conférences agrégé .....

- 1974 -

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549623_0013

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II

U.E.R. DE PHARMACIE

1974 - THÈSE N° 685

PARASITISME ET GLUCOCORTICOSTEROIDES AU COURS DE L'INFESTATION PRIMAIRE DU RAT MALE PAR « STRONGYLOIDES RATTI »

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

MENTION PHARMACIE

PAR

Francis CARCENAC

né à Belvès (Dordogne) le 12 juillet 1947

Présentée et soutenue publiquement le vendredi 27 septembre 1974 :

Examinateurs de la thèse :

MM. J. BAILENGER, Professeur ..... *Président.*

G. MAYER, Professeur .....

R. PAUTRIZEL, Professeur .....

R. CROCKETT, Professeur ..... *Juges.*

J. TRIBOULEY, Maître de conférences agrégé .....

- 1974 -

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Ce travail a été réalisé

au LABORATOIRE DE ZOOLOGIE ET BIOLOGIE ANIMALE

(Professeur J. BAILENGER)

U.E.R. Pharmacie

UNIVERSITE BORDEAUX II

REMERCIEMENTS

Ce travail a pu être effectué grâce à la bienveillance de Monsieur le Professeur BAILENGER qui nous a proposé ce sujet d'étude et nous a guidé au cours de sa réalisation.

Nous le prions de bien vouloir accepter l'expression de notre respectueuse gratitude pour le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et l'aide qu'il nous a obligeamment apportée.

Nous tenons également à exprimer notre respectueuse reconnaissance à Monsieur le Professeur PAUTRIZEL qui a mis à notre disposition sa souche de Strongyloides ratti. Ce sentiment s'adresse aussi à Monsieur le Professeur TRIBOULEY et à Madame TRIBOULEY qui nous ont toujours très aimablement apporté leur précieux concours.

Nos remerciements s'adressent également au personnel du Laboratoire qui, tout au long de ce travail, nous a apporté très amicalement sa contribution.

I N T R O D U C T I O N

Il est maintenant bien établi que le parasitisme est influencé par l'administration de doses élevées de glucocorticoïdes : son intensité et sa durée, donc sa gravité, s'en trouvent, en général, considérablement accrues.

A l'opposé, on n'a pratiquement pas analysé les répercussions éventuelles d'une atteinte parasitaire sur la sécrétion des glucocorticoïdes.

Dans ce travail, nous nous proposons d'établir les faits suivants :

1°) Vérifier les répercussions d'un traitement glucocorticostéroïde sur l'évolution d'un état parasitaire en analysant les modifications sanguines, hormonales et cytologiques, provoquées par cette thérapeutique ;

2°) Etablir les conséquences d'une atteinte parasitaire sur la sécrétion des glucocorticostéroïdes.

Pour réaliser ces expériences, nous utilisons comme complexe hôte - parasite l'association Rat - Strongyloides ratti. Ce choix est essentiellement dicté par trois raisons :

- La physiologie des glucocorticoïdes du rat a fait l'objet d'études approfondies.

- La Strongyloïdose du rat présente la particularité de donner lieu à un phénomène qui aboutit à un déparasitage spontané de sorte que l'évolution de la parasitose traduit un conflit hôte - parasite non pas latent mais aigu, et d'une durée limitée. Ce phénomène est classiquement dénommé "Self - cure".

- Parmi les affections vermineuses cette Strongyloïdose a été relativement peu étudiée.

P L A N

Première partie

MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE

I - EFFETS DE L'ADMINISTRATION DES GLUCOCORTICOIDES SUR L'EVOLUTION DES PARASITOSES A NEMATHELMINTHES.

- A - Effets des glucocorticoïdes lors d'une infestation primaire.
- B - Effets des glucocorticoïdes lors d'une réinfestation.
- C - Rupture de la spécificité parasitaire.

II - CYCLE VITAL DE STRONGYLOIDES RATTI.

- A - Phase libre.
- B - Phase parasite.

III - LES HORMONES GLUCOCORTICOIDES DU RAT.

- A - Sécrétion.
- B - Facteurs influençant le taux des glucocorticoïdes plasmatiques.
- C - Régulation de la sécrétion.
- D - Transport.

IV - LES POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES DU RAT.

- A - Fonctions des polynucléaires éosinophiles.
- B - Mécanisme de l'éosinophilie et sa régulation.

Deuxième partie

METHODES EXPERIMENTALES

I - ANIMAUX ET LEUR REPARTITION PAR LOTS.

II - MODE D'INFESTATION.

III - CONTROLE DU PARASITISME.

IV - NUMERATION DES LEUCOCYTES ET DES POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES SANGUINS.

V - DOSAGE DES GLUCOCORTICOSTEROIDES PLASMATIQUES.
A - Conditions de prélèvement du sang.
B - Dosage de la corticostérone.
C - Dosage du cortisol.

VI - SEPARATION DU CORTISOL ET DE LA CORTICOSTERONE PLASMATIQUES.

Troisième partie

INFLUENCE DES CONDITIONS EXPERIMENTALES SUR L'EVOLUTION DE STRONGYLOIDES RATTI CHEZ LE RAT

I - INFLUENCE DE LA DOSE INFESTANTE SUR LE PARASITISME.
A - Détermination d'une dose infestante non létale.
B - Evolution du parasitisme en fonction de la dose infestante.

II - EFFETS DES PRELEVEMENTS SANGUINS SUR LE PARASITISME.

Quatrième partie

INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION DES GLUCOCORTICOIDES SUR L'EVOLUTION DU PARASITISME ET DES PARAMETRES SANGUINS (GLUCOCORTICOSTEROIDEMIE, LEUCOCYTOSE, EOSINOPHILIE)

I - EVOLUTION DU PARASITISME.

II - EVOLUTION DES PARAMETRES SANGUINS.
A - Influence de l'administration d'acétate de corticostérone.
B - Influence de l'administration d'acétate de cortisol.

Cinquième partie

REPERCUSSIONS DU PARASITISME SUR L'EVOLUTION DE LA CORTICOSTERONEMIE RELATIONS AVEC LA LEUCOCYTOSE ET L'EOSINOPHILIE

I - EXPERIENCE I.

II - EXPERIENCE II.

III - SYNTHESE ET DISCUSSION DES RESULTATS DONNES PAR LES EXPERIENCES I et II.

A - Evolution de la corticostéronémie.

B - Evolution de la leucocytose.

C - Evolution de l'éosinophilie.

C O N C L U S I O N S

PREMIERE PARTIE

MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE

Il nous semble nécessaire de rappeler plusieurs points qui sont en relation directe avec nos expérimentations :

- Les effets de l'administration des glucocorticoïdes sur l'évolution des parasitoses à Némathelminthes ;
- Le cycle vital de Strongyloides ratti ;
- Les hormones glucocorticoïdes du rat ;
- Les polynucléaires éosinophiles du rat.

I

EFFETS DE L'ADMINISTRATION DES GLUCOCORTICOIDES SUR L'EVOLUTION DES PARASITOSES A NEMATHELMINTHES

Ces effets sont principalement étudiés selon trois modalités :

- Lors d'une infestation primaire ;
- Lors d'une réinfestation ;
- Lors d'essais de rupture de la spécificité parasitaire.

A - EFFETS DES GLUCOCORTICOIDES LORS D'UNE INFESTATION PRIMAIRE.

De nombreux travaux ont été réalisés sur la trichinose expérimentale.

En 1955, COKER, étudiant les effets de l'acétate de cortisone chez la souris non immunisée, infestée par Trichinella spiralis, montre que 0,5 mg par jour, permettent de prolonger le maintien des vers adultes dans l'intestin et d'augmenter le parasitisme larvaire au niveau des muscles. Il attribue cet effet, pour une large part, à la suppression par la cortisone de la réponse cellulaire.

En 1962, ZAIMAN et coll. montrent que lors d'une infestation massive par Trichinella spiralis chez la souris, l'acétate de cortisone augmente la mortalité et diminue le temps de survie des souris.

Des résultats voisins ont été obtenus avec la trichinose du rat. Ainsi, en 1967, PAWLOWSKI montre que l'hydrocortisone arrête totalement l'expulsion des vers adultes chez les rats normaux ou surrénalectomisés ; la corticostérone n'a pas d'action apparemment chez les rats normaux, mais inhibe l'expulsion chez les rats surrénalectomisés. Inversement, la surrénalectomie détermine une expulsion rapide des trichines de l'intestin du rat.

Dans le cadre du parasitisme de la souris par Trichuris muris, CAMPBELL et COLLETTE (1962) démontrent son intensification puis l'acétate de cortisone puis, CAMPBELL (1963) met en évidence que celui-ci est capable d'empêcher le déparasitage spontané des souris.

Nippostrongylus brasiliensis, parasite du rat dont le cycle vital est proche de celui de Strongyloïdes ratti et qui donne également lieu à un déparasitage spontané, fait actuellement l'objet de très nombreux travaux. OGILVIE (1965), utilisant des dérivés de la cortisone (Prednisolone et bétaméthasone), réussit à empêcher l'élimination des vers tout en maintenant une dissémination fécale importante, même si l'administration de bétaméthasone précède de peu le début présumé du déparasitage spontané.

Parallèlement, JARRETT et coll.(1967) démontrent que la "Self - cure" est empêchée ou interrompue selon que l'administration journalière de cortisone commence avant l'infestation, juste avant le début présumé de la "Self - cure" ou après que celle-ci soit amorcée.

Enfin, en pathologie humaine, BAILENGER et coll. (1972) ont insisté sur les dangers de la corticothérapie au cours des parasitoses, en particulier lors de la strongyloïdose.

B - EFFETS DES GLUCOCORTICOIDES LORS D'UNE REINFESTATION.

Les essais des glucocorticoïdes au cours d'une infestation primaire, dans le cadre des parasitoses expérimentales précédemment citées, ont souvent été complétés sur des animaux immunisés.

Ainsi, COKER montre que chez les souris immunisées vis à vis de Trichinella spiralis, l'acétate de cortisone entraîne la persistance d'un nombre plus grand de vers dans l'intestin (1954), associée à la suppression presque complète d'une réaction cellulaire intestinale (1954, 1956). De plus, chez ces animaux immunisés, la cortisone réduit le volume de la rate, le nombre des lymphocytes circulants ainsi que des éosinophiles sanguins et intestinaux. Il y a donc une dépression de l'immunité acquise.

Chez le rat immunisé vis à vis de Nippostrongylus brasiliensis, WEINSTEIN (1953) réussit à augmenter le parasitisme intestinal grâce à la cortisone. Puis, OGILVIE (1965) montre que la prednisolone et la bétaméthasone peuvent non seulement empêcher le développement de l'immunité, mais aussi supprimer l'immunité acquise. Pour cet auteur, ces corticoïdes agiraient principalement sur les anticorps circulants. De plus, ces hormones, par leur effet anti-inflammatoire, diminueraient le débit sanguin et par là, l'apport cellulaire et humoral dans les zones intestinales, habituellement caractérisées par une forte réaction inflammatoire.

C - RUPTURE DE LA SPECIFICITE PARASITAIRE .

De nombreux auteurs ont montré que l'administration de corticoïdes peut rompre la spécificité parasitaire. Les protocoles expérimentaux sont nombreux et variés.

En 1956, ROMAN, étudie les effets de la cortisone sur l'infestation de divers rongeurs par Strongyloides ratti du surmulot. Alors que les souris jeunes peuvent être infestées, les souris adultes nécessitent l'administration de fortes doses de cortisone pour permettre au parasite de s'installer. Par contre, les cobayes, quel quesoit leur âge, montrent vis à vis de ces Nématodes une résistance qui ne peut être vaincue que par de très fortes doses

de cortisone.

Parmi les autres travaux relatifs à une inhibition de la résistance naturelle par la cortisone, nous relevons notamment une adaptation possible :

- Au rat blanc de Litomosoides carinii, parasite du rat du coton (BRIGGS, 1959), et de Nématospiroides dubius, parasite de la souris (CROSS, 1960) ;

- Au hamster et au cobaye de Strongyloides papillosus du mouton et du lapin (BEZUBIK, 1960) ;

- Au cobaye de Nippostrongylus brasiliensis (PARKER, 1961); alors que normalement les larves sont retenues par la réponse inflammatoire de l'hôte au niveau de la peau, la cortisone supprime cette réponse cellulaire permettant ainsi à de nombreuses larves de compléter leur migration.

Donc, il ressort de ces expérimentations que l'administration des glucocorticostéroïdes diminue la résistance des organismes parasités par certains Némathelminthes, avec pour conséquences :

- Des primo-infestations plus graves par inhibition de l'acquisition de l'immunité ;

- Des réinfestations beaucoup plus importantes, par suppression totale ou partielle de l'immunité acquise ;

- Des ruptures de spécificité possibles par inhibition de l'immunité naturelle.

Ces faits sont dûs aux caractères immunodépresseurs des glucocorticostéroïdes que MAKINODAN et coll. (1970) ont résumés, en précisant que les mécanismes d'action de ces hormones dans les différents types de réponse immunitaire sont encore mal compris : ces agents agissent sur la phagocytose, ont des effets lympholytiques, anti-inflammatoires, ainsi qu'une action générale inhibitrice sur la synthèse des protéines.

II

CYCLE VITAL DE STRONGYLOIDES RATTI, SANDGROUND, 1925

Ce cycle comprend 2 phases :

- Une phase libre, dans le milieu extérieur ;
- Une phase parasite au sein de l'hôte.

A - PHASE LIBRE.

Le rat parasité depuis plus de 5 jours émet dans ses déjections des oeufs et des larves.

Les oeufs sont pondus par des femelles parthénogénétiques ; ils ont une coque mince renfermant un embryon replié sur lui-même. Ils mesurent 45 à 60 µm sur 30 à 35 µm .

Les larves issues des oeufs, sont de type rhabditoïde et mesurent 300 µm environ sur 15 à 18 µm.

Leur extrémité antérieure comporte un oesophage tubulaire à paroi épaisse, se terminant par un bulbe. Cet oesophage occupe environ le tiers de la longueur du corps. Leur extrémité postérieure se termine en pointe aigüe.

Selon les conditions de température et d'humidité, on peut avoir soit un cycle homogonique, soit un cycle hétérogonique.

- Cycle homogonique . La larve de première génération L_1, rhabditoïde, donne après une première mue une forme strongyloïde L_2 non infestante et encore enveloppée dans la cuticule de la larve dont elle est issue. Après une deuxième mue, on obtient le stade L_3, strongyloïde, dépourvu d'enveloppe, appelé larve filariforme infestante. Elle est très allongée (600 µm sur 15 à 18 µm).

L'extrémité antérieure possède un oesophage cylindrique, mince, allongé, de longueur égale au 1/3 du corps. L'extrémité postérieure se termine en pointe bifide.

- Cycle hétérogonique. Il se complète par l'apparition d'adultes rhabditoïdes provenant de la transformation de larves rhabditoïdes après 3 ou 4 mues. La maturité sexuelle étant atteinte, ils s'accouplent et les femelles pondent des oeufs semblables à ceux des femelles intestinales. A l'éclosion des oeufs, on a des larves rhabditoïdes L_1, puis des larves L_2, puis les larves strongyloïdes, filariformes infestantes L_3.

B - PHASE PARASITE.

Il semble que la pénétration soit transcutanée et se produise préférentiellement par les follicules pileux (ABADIE, 1963). Elle dure quelques secondes et trois heures après le contact infestant, toutes les larves ont quitté la peau. Elles sont alors entraînées par voie lymphatique d'abord, puis sanguine : ABADIE (1963) les retrouve dans le sang 9 heures après l'infestation. Les parasites sont présents dans les poumons 12 à 15 heures après le contact infestant (ABADIE, 1963 ; WERTHEIM et LENGY, 1965).

Toutefois, en cas d'atteinte massive, l'organisme tout entier est envahi : SPINDLER (1958) retrouve les larves dans de nombreux organes 13 jours après l'infestation. La plupart des rats meurent 4 à 5 jours après le contact infestant, s'il est trop important.

ABADIE (1963) trouve la plus grande concentration larvaire dans les poumons 30 à 40 heures après le début du parasitisme. Aucune larve n'est décelée dans les poumons après 96 heures. Ces larves postfilariformes présentent un léger accroissement de l'oesophage et un déplacement des ébauches génitales vers la partie postérieure du corps (WERTHEIM et LENGY, 1965).

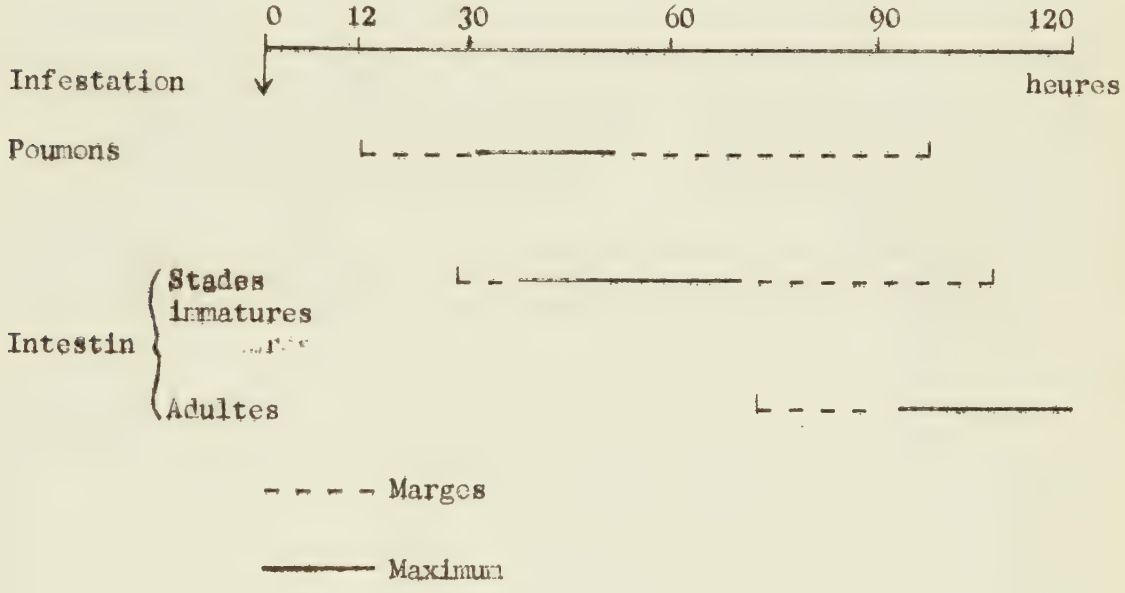
Les premières larves arrivent dans l'intestin grêle 32 à 34 heures après le contact infestant ; elles se logent dans la muqueuse. Ce sont les formes préadolescentes qui montrent les premiers

signes de mue au bout de 3 heures. La première mue intestinale a lieu vers la 47ème heure, la seconde 74 heures après l'infestation, donnant naissance à de jeunes femelles. La taille optimum des femelles est atteinte vers 120 heures.

Il n'y a pas de multiplication endogène et l'évolution est caractérisée par un déparasitage spontané, progressif, et total en un temps de l'ordre de 25 à 30 jours.

EVOLUTION PARASITAIRE DE STRONGYLOIDES RATTI

Schéma récapitulatif d'après ABADIE (1963), WERTHEIM et LENGY (1965)



La durée du parasitisme est influencée par différents facteurs :

- La souche de Strongyloides ratti : avec une souche à prédominance homogonique, ROMAN obtient en 1956 des durées de parasitisme de 71 jours à plus de 6 mois.

Lors d'une étude biologique d'une souche de Strongyloides ratti provenant d'un rat des champs, isolée en 1964, cet auteur constate que le parasitisme évolue en 50 à 56 jours.

En 1959, WERTHEIM décrit une souche qui d'abord évolue sur 100 jours, puis sur 35 jours.

- La dose infestante et l'âge des animaux parasités : en 1970, THOMAS montre qu'avec des rattes de 30 à 40 g , les infestations par 300 à 1.000 larves sont caractérisées par une forte décroissance dans la production des oeufs 3 semaines après l'infestation, alors que pour des doses de 10 à 100 larves par ratte, l'émission des oeufs se maintient pendant 8 à 10 semaines à un niveau constant.

Le mécanisme de l'élimination des vers n'a pas été étudié pour Strongyloides ratti. Par contre, de très nombreux travaux sont consacrés à l'élimination spontanée de Nippostrongylus brasiliensis chez le rat. Ce Nématode a un cycle vital proche de celui de Strongyloides ratti. Les théories qui sont actuellement confrontées envisagent presque exclusivement l'aspect immunologique (production d'anticorps anti-vers et manifestation d'anaphylaxie immédiate locale au niveau intestinal, principalement), sans tenir compte de l'intervention possible de réactions aspécifiques au nombre desquelles pourrait se ranger la sécrétion des glucocorticostéroïdes.

III

LES HORMONES GLUCOCORTICOIDES DU RAT

A - SECRETION.

En 1952, SAFFRAN et coll. montrent qu'une surrénale de rat produit des substances corticoïdes et que cette production est stimulée par la corticotrophine.

En 1953, BUSH étudie les différences de sécrétion de la surrénale entre les diverses espèces animales : toutes sécrètent du cortisol (composé F de KENDALL) et de la corticostérone (composé B de KENDALL), présents dans le sang veineux surrénalien dans un rapport très variable. Chez le rat, la corticostérone est le principal glucocorticoïde, le rapport F/B étant inférieur à 0,05.

En 1961, PERON montre que les deux principaux corticostéroïdes du rat sont la corticostérone principalement, et un composé qu'il identifie comme la 18 hydroxydéoxycorticostérone.

Dans le sang périphérique, les taux normaux exprimés en corticostérone varient suivant les méthodes de dosage utilisées par les auteurs, mais aussi vraisemblablement selon les souches et les conditions expérimentales :

SILBER et coll. (1958) : 20 à 40 µg / 100 ml.
GUILLEMIN et coll. (1958) : 9 à 15 µg / 100 ml.
MONCLOA et coll. (1959) : 20 ± 6 µg / 100 ml.
KITAY (1961) : 8 à 16 µg / 100 ml.

B - FACTEURS INFLUENCANT LE TAUX DE GLUCOCORTICOIDES PLASMATIQUES.

a - Rythme nycthéméral : la corticostéronémie varie en fonction du moment de la journée ; MAC CARTHY et coll. (1960) montrent que le taux de corticostérone plasmatique s'accroît tout au long de la journée : de 7,2 µg / 100 ml entre 2 et 3 heures du matin, il passe à 11,8 µg / 100 ml entre 9 et 10 heures, puis à 22 µg / 100 ml entre 14 et 15 heures et atteint 31,2 µg / 100 ml entre 21 et 22 heures.

b - L'âge : le taux de la corticostérone plasmatique augmente progressivement avec l'âge (THORNTON et coll.,1962).

c - Le sexe : la surrénale du rat femelle est beaucoup plus grosse que la surrénale du rat mâle. KITAY (1961) montre que le taux de corticostérone dans la veine surrénale est 2,5 fois plus élevé chez la femelle que chez le mâle, et que dans le sang périphérique il est de 8 à 10 µg / 100 ml chez le mâle et voisin de 16 µg / 100 ml chez la femelle.

d - L'alimentation : elle a une grande importance. Par exemple, un régime prolongé carencé en protéines ou en certains amino-acides, aboutissant à un état de dénutrition, suscite une augmentation de la corticostérone circulante (ADAM et coll.,1965).

e - Le "stress" : alors que les facteurs précédents, d'origine endogène, sont responsables des variations physiologiques, le "stress" apparaît comme un facteur exogène susceptible de provoquer de fortes augmentations du taux plasmatique ou surrénalien.

L'anesthésie à l'éther ou au nembutal constitue un exemple de "stress", comme le montrent BEIGELMAN et coll. (1956) : déjà, 10 minutes après une anesthésie

complète à l'éther, la corticostéronémie dans la veine rénale du rat s'est fortement accrue. En 1963, HEDNER retrouve cette élévation dans le sang périphérique dans les mêmes délais.

C - REGULATION DE LA SECRETION.

La sécrétion corticosurrénalienne est sous la dépendance de la corticotrophine hypophysaire ou A.C.T.H..

La sécrétion d'A.C.T.H. dépend de son propre taux dans le sang et du taux des glucocorticoïdes circulants : c'est le mécanisme du "feed-back" qui est mis en jeu. Par exemple, si la corticostéronémie augmente, elle entraîne une diminution de la production d'A.C.T.H.. Inversement, sa diminution provoque une décharge d'A.C.T.H..

Ainsi, SYDNOR et SAYERS (1954) montrent que le taux de l'A.C.T.H. dans le sang des rats non "stressés" est très faible. Une semaine après surrénalectomie, sa concentration a fortement augmenté.

Inversement, lors d'un "stress", YATES et coll. (1961) précisent que la libération d'A.C.T.H. n'est pas indépendante d'un contrôle par "feed-back" négatif qui met en jeu la concentration en glucocorticoïdes circulants.

La sécrétion d'A.C.T.H. dépend aussi d'une régulation hypothalamique grâce au facteur C.R.F. protéique (corticotropin releasing factor) sécrété au niveau de l'hypothalamus. Ce contrôle dépend lui-même de nombreuses fonctions nerveuses.

La rapidité de la réponse surrénalienne chez le rat, très sensible au moindre stimulus extérieur, montre l'importance du facteur hypothalamique et en fait un animal délicat à manier.

D - TRANSPORT.

Le mécanisme du transport a surtout été étudié chez l'homme. La majeure partie des glucocorticoïdes est liée dans le

plasma à des protéines. Il y a 2 types de liaisons (DAUGHADAY, 1956 ; 1958 a, 1958 b) :

- Liaison avec l'albumine de faible affinité et de grande capacité ;

- Liaison avec une α globuline, la Transcortine, de grande affinité, et de faible capacité. L'affinité est forte pour le cortisol et la corticostérone, mais nulle pour les dérivés conjugués.

D'autre part, WESTPHAL et coll. (1962) montrent que le sérum de rat a plus d'affinité pour la corticostérone que pour le cortisol, alors que c'est l'inverse chez l'homme.

Si normalement, la plus grande partie de ces corticoïdes est liée à ces protéines, leur capacité de fixation est assez faible et est facilement débordée, en particulier lors d'un "stress" (KNIGGE et HOAR, 1963).

La corticostérone, et les autres produits de sécrétion, existent donc sous deux formes circulantes :

- La plus faible partie, non liée aux protéines représente la forme biologiquement active, directement ;

- La majeure partie, liée aux protéines par des liaisons facilement réversibles.

C'est pourquoi ces deux formes sont dites "libres", ce qui les oppose aussi à la majeure partie de leurs dérivés de catabolisme qui sont conjugués.

IV

LES POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES DU RAT

Les helminthoses, et plus particulièrement celles comportant une phase de migration tissulaire, sont génératrices d'éosinophilie. D'autre part, le rôle de la surrénale est primordial dans la régulation du nombre des éosinophiles circulants.

Cette double influence nous a incité à étudier l'évolution de l'éosinophilie dans le cadre des relations glucocorticoïdes-parasitisme. C'est pourquoi, il nous paraît nécessaire de rappeler dans un premier temps les principales fonctions des éosinophiles, puis, dans un deuxième temps d'envisager le mécanisme de l'éosinophilie et sa régulation.

A - FONCTIONS DES POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES.

Si certaines propriétés des éosinophiles sont connues avec certitude depuis longtemps, telle la phagocytose, la finalité de leurs fonctions est encore incertaine.

Pour ASCHKENASY (1957 a), leur rôle majeur est de participer à des réactions immunologiques contre certains corps étrangers et en particulier les protéines. Le fait que ces cellules aient tendance à s'accumuler au niveau des surfaces exposées à l'environnement (peau, muqueuses respiratoires et intestinales) est en faveur d'une intervention dans des réactions de défense, sans préjuger de leur rôle de témoins ou de participants actifs.

L'intervention active des éosinophiles dans les réactions antigènes-anticorps est mise en évidence directement par ARCHER (1969) qui montre que les éosinophiles sont capables de phagocyter les complexes antigènes-anticorps insolubles et que la phagocytose est

suivie de la lyse des granules éosinophiles près du phagosome.

De même ARCHER et coll. (1969) décrivent un test simple pour démontrer que les complexes antigènes-anticorps solubles sont capables de provoquer la lyse des éosinophiles in vitro.

De façon indirecte, l'intervention des éosinophiles dans les réactions antigènes-anticorps est attestée par l'origine allergique d'un grand nombre d'hyperéosinophilies sanguines ou tissulaires. D'après PAUTRIZEL (1948), la présence de certains éosinophiles qui constituent la réaction éosinophilique tissulaire dûe aux helminthes semble résulter d'une manifestation anaphylactique. En effet, les éosinophiles sont attirés par les foyers où se produit une libération d'histamine.

L'histamine seule produit une augmentation des éosinophiles dans le sang circulant (VAUGHN, 1952). De plus, une substance chimique à propriétés antihistaminiques est obtenue en 1952 par VERCAUTEREN et PEETERS. En 1953, VAUGHN postule que le leucocyte éosinophile agit comme un inactivateur de l'histamine et des substances de type histaminique.

Une réaction d'anaphylaxie immédiate locale, avec libération d'histamine à partir des granules des mastocytes (RILEY, 1955), représente donc un foyer d'attraction pour les éosinophiles.

B - MECANISME DE L'EOSINOPHILIE ET SA REGULATION.

Nous rappelons tout d'abord les conceptions classiques concernant la physiopathologie de l'éosinophilie ; puis nous envisageons les cas particuliers des hyperéosinophilies helminthiques et des éosinopénies d'origine corticosurrénalienne, ce qui nous conduira à considérer le rôle éventuel de la corticosurrénale dans la régulation de l'éosinophilie.

1°) Physiopathologie de l'éosinophilie . ESSELIER rappelle en 1957 que certaines substances possédent un pouvoir éosinotactique : lorsqu'elles pénètrent dans l'organisme, elles provo-

quent, indépendamment de tout phénomène allergique, une éosinophilie tissulaire. L'appel d'éosinophiles dans les tissus a pour conséquence une éosinopénie sanguine puis médullaire. Celle-ci déclenche une myélopoïèse éosinophile et les éosinophiles produits en plus grand nombre vont saturer le territoire où est localisé le stimulus éosinotactique. Après saturation, les éosinophiles s'accumulent dans le sang, puis l'éosinophilie sanguine freine l'éosinopoïèse.

Ainsi, selon ASCHKENASY (1957 a) le nombre des éosinophiles dans le sang est la résultante d'une part de l'afflux des cellules provenant de la moelle osseuse et des lieux de stockage temporaire (rate, poumon ?), d'autre part de la perte de ces cellules soit par lyse intravasculaire, soit par diapédèse vers des foyers de séquestration définitive et de phagocytose. Selon la prédominance des mécanismes de production ou de consommation, on note une hyperéosinophilie ou une éosinopénie, chacun de ces états déclenchant ensuite un phénomène de régulation compensatrice.

2°) Cas particulier des hyperéosinophilies helminthiques . D'après LAVIER (1955), quand un Helminthe pénètre dans l'organisme, il met en jeu un processus d'excitation de la moelle osseuse qui se traduit après un certain temps de latence par une hyperleucocytose. Elle est tout d'abord neutrophile, puis éosinophile. Cette hyperéosinophilie est transitoire ; après une montée très rapide, puis de plus en plus lente, elle atteint un maximum et commence à décroître, vite d'abord, puis de plus en plus lentement.

La forme générale de la courbe d'éosinophilie en fonction du temps est la même dans tous les cas, mais les points critiques en sont modifiés en fonction de l'hôte, du parasite et de la densité parasitaire.

RYTOMAA (1960) ayant montré que pour chaque éosinophile circulant, il y a 200 à 300 cellules mûres en réserve dans la moelle, et autant dans les tissus extravasculaires, BASTEN et coll. (1970 a) pensent qu'une hyperéosinophilie n'est que le reflet inexact de l'augmentation de la production médullaire et qu'il y a

des mécanismes homéostatiques qui empêchent l'accumulation des éosinophiles dans la circulation, où, d'ailleurs, ils ne restent que quelques heures (HUDSON,1968).

L'existence d'un facteur parasitaire éosinopoïétique ou éosinotactique est très controversée. Déjà, en 1948, PAUTRIZEL ne peut mettre en évidence au niveau tissulaire aucun appel éosinophilique spécifique avec des substances vermineuses sécrétées ou extraites. Il insiste alors sur l'origine anaphylactique d'une partie de la population éosinophile retrouvée à ce niveau.

En 1970, BASTEN et coll. essaient de déterminer la nature du facteur éosinopoïétique, si celui-ci existe. Ils utilisent l'inoculation de larves de Trichinella spiralis à des rats comme stimulus expérimental. Le fait que l'homogénéisation des larves supprime le pic éosinophile est un argument contre l'existence d'un constituant éosinopoïétique spécifique et les auteurs suggèrent que, dans ces circonstances, l'hyperéosinophilie apparaît comme le résultat de l'interaction entre les parasites intacts et certaines cellules de l'hôte. De plus, ils classent le phénomène dans la catégorie des réactions immunologiques du fait de l'existence d'une période de latence et d'une réponse accrue lors d'une réinfestation.

Cela amène BASTEN et BEESON (1970 b) à envisager un rôle possible du lymphocyte dans l'éosinophilie. Le lymphocyte aurait un rôle inducteur et agirait à distance sur la moelle par un facteur diffusible. Ils rattachent ainsi la réponse éosinophile, pour cette catégorie de stimulus, aux phénomènes immunitaires ; mais si l'induction par le lymphocyte est spécifique, les éosinophiles eux-mêmes manquent probablement d'une telle spécificité dans leurs fonctions.

Enfin, BOYER et coll. (1970) complètent ce travail en montrant le rôle inhibiteur sur la réponse éosinophile de divers agentsimmunodépresseurs, dont un glucocorticoïde, la prednisone. Cette étude leur permet d'analyser la réponse éosinophile de façon

précise. Celle-ci comporterait deux étapes :

- Une phase inductive, pendant laquelle se fait aussi la mise en mémoire éosinophile ;
- Une phase proliférative.

Il apparaît donc que la réponse éosinophile a de nombreux traits communs avec la réponse immunitaire. Si ce schéma est exact, il est toutefois vraisemblable que se superpose souvent, à un stade plus ou moins avancé de la réponse, l'effet d'une réaction d'anaphylaxie immédiate locale.

3°) Eosinopénie d'origine corticosurrénalienne ; rôle de la corticosurrénale dans la régulation de l'éosinophilie . En 1939, DALTON et SELYE signalent une éosinopénie au cours d'agressions non spécifiques et après injection d'hormones corticosurrénaliennes. Mais le rôle dominant joué par les surrénales dans la régulation de l'éosinophilie sanguine est entrevu dès 1914 par SCHWARZ qui remarque que l'hyperactivité des surrénales s'accompagne d'une diminution, et l'hypoactivité d'une augmentation du nombre des éosinophiles.

Indépendamment des surrénales, ASCHKENASY (1957 b) rappelle le rôle important des autres glandes endocrines et du système nerveux. Il montre même, par des expériences de surrénalectomie réalisées chez le rat mâle adulte en 1956, que les surrénales ne sont pas indispensables à la régulation de l'éosinophilie, conclusion qu'il trouve surprenante en pensant au remarquable pouvoir éosinopéniant des glucocorticoïdes et au rôle déterminant joué par les surrénales dans la plupart des réponses éosinopéniques aux agressions. Ce sont ces deux aspects que nous allons considérer successivement.

a - Effets de l'A.C.T.H. et des glucocorticoïdes : c'est la découverte de l'action éosinopéniante de l'A.C.T.H. chez l'homme (HILLS et coll.,1948), effet qui ne se produit pas chez les addisoniens, qui est à l'origine du test de THORN (1948). Cet effet est dû à la libération de glucocorticoïdes. D'ailleurs,

HILLS et coll. (1948) montrent que la cortisone est éosinopéniante; l'hydrocortisone a un effet comparable, la corticostérone est moins active (SPEIRS et MEYER, 1951).

b - Responsabilité des surrénales dans les éosinopénies d'agression ou de "Stress" : à la suite des travaux de SELYE (1936, 1946) sur le rôle des surrénales dans les "réactions d'alarme", et de ceux de THORN et coll. (1948) sur l'éosinopénie en tant que critère de l'activité surrénalienne, on a attribué l'éosinopénie produite par les différents agents d'agression à une stimulation exclusive de l'axe hypophysocorticosurrénalien, mais il existe d'autres facteurs responsables d'éosinopénies extra-surrénaliennes (ASCHKENASY, 1957). Toutefois, le rôle de l'axe hypophysocorticosurrénalien est primordial et il est vraisemblable qu'il contrôle en grande partie les variations de l'éosinophilie et en particulier ses variations nycthémérales.

Ainsi, chez les rongeurs (souris, rats) la chute maxima de l'éosinophilie est observée au début de la nuit, ce qui correspond à la période de la plus grande activité des animaux (HALBERG et coll. 1953, 1954 a et b) et à un taux élevé dans les variations nycthémérales de la corticostéronémie (MAC CARTHY et coll., 1960). ASCHKENASY (1957 b) pense que c'est probablement à l'ensemble des excitations sensorielles (bruit, lumière,...) et aux stimuli de l'activité corporelle que doivent être attribuées les variations de l'éosinophilie sanguine.

Il apparaît donc que les glucocorticoïdes, par leur effet éosinopéniant variant constamment en fonction de leur apport plus ou moins grand dans l'organisme, sont les hormones physiologiquement les plus effectives dans la régulation de l'éosinophilie.

Etant donnée la rapidité de cette action, il apparaît que ces hormones auraient une intervention directe et immédiate indépendante de celle qu'elles manifestent indirectement en déprimant les réponses immunologiques.

DEUXIEME PARTIE

METHODES EXPERIMENTALES

Nous allons décrire les méthodes que nous utilisons en justifiant les raisons de notre choix et nos conditions de travail :

- Animaux et leur répartition par lots ;
- Mode d'infestation ;
- Contrôle du parasitisme ;
- Numération des leucocytes et des polynucléaires éosinophiles sanguins ;
- Dosage des glucocorticostéroïdes plasmatiques ;
- Séparation du cortisol et de la corticostérone plasmatiques.

I

ANIMAUX ET LEUR REPARTITION PAR LOTS

Les animaux utilisés sont des rats blancs, adultes, de souche WISTAR ; de plus, ils sont exempts d'organismes pathogènes spécifiques (E.O.P.S.) afin d'éviter qu'ils aient eu des contacts antérieurs avec des parasites pouvant éventuellement présenter des antigènes communs avec Strongyloides ratti.

Nous utilisons des rats mâles à cause de l'absence des modifications hormonales qu'on trouve au cours du cycle génital de la femelle.

Les animaux soumis à une même épreuve sont groupés en un lot éventuellement subdivisé afin d'alterner les prélèvements sanguins pour éviter de répéter ceux-ci trop fréquemment sur un même animal, ce qui augmenterait les possibilités de "stress" dues au saignement.

Pour chaque expérimentation, les lots sont homogènes du

point de vue du poids des rats, mais les poids moyens varient de 200 à 280 g selon les expérimentations.

Chaque rat est isolé en cage individuelle et l'alimentation lui est fournie à volonté après avoir été stérilisée, conditions qui évitent les infestations parasitaires croisées.

La température de l'animalerie est maintenue à 24° C environ. Les conditions de manipulation sont elles aussi identiques.

Ces précautions ont pour but d'éviter les agressions auxquelles les rats sont particulièrement sensibles.

II

MODE D'INFESTATION

Diverses techniques sont utilisées pour infester des animaux neufs à partir de larves infestantes issues de coprocultures.

SHELDON (1937) étudie diverses voies d'introduction des larves infestantes. La meilleure semble être la pénétration transcutanée ; toutefois, il obtient de bons résultats en utilisant la voie orale.

Par contre, SPINDLER (1958) d'une part et WERTHEIM (1959) d'autre part, préférent déposer l'inoculum sur une petite partie rasée de la peau du dos des animaux légèrement anesthésiés.

Cependant, les techniques par balnéation évitent le "stress" de l'anesthésie. C'est ainsi que procèdent ROMAN (1959) et ABADIE (1963). Ce type d'infestation se rapproche le plus des conditions naturelles et nous lui donnons notre préférence.

La balnéation se fait dans des bocaux de 2 litres, dont les couvercles sont perforés. Ces bocaux contiennent 60 ml d'eau tiède, auxquels on rajoute un volume déterminé de suspension larvaire (ORECCHIONI-EMMANUELLI, 1969) ; ce volume est fonction de la

concentration larvaire et du nombre total de larves désiré pour l'infestation. Le volume final de liquide contenu dans le bocal n'excède pas 70 ml.

Il faut homogénéiser soigneusement la suspension larvaire par agitation avant les adjonctions successives à chaque bocal. Les rats sont introduits dans les bocaux à raison de 1 par bocal ; ceux-ci sont refermés et la balnéation dure 40 minutes dans une pièce dont la température est de 25° C. Au bout de ce temps, les rats sont mis en cage individuelle.

III

CONTROLE DU PARASITISME

Il est fait au moyen de la coprologie qui permet de numérer les oeufs et les larves éliminés dans les selles. Cette dissémination parasitaire est un bon reflet de l'intensité du parasitisme intestinal (ORECCHIONI-EMMANUELLI,1969), bien qu'au moment de la "self-cure", il est montré, pour Nippostrongylus brasiliensis, que la diminution de l'élimination des oeufs et des larves précède légèrement l'expulsion des adultes (MULLIGAN et coll.,1965).

On recueille un pellet fécal par rat de chaque lot ; ceux provenant d'un même lot sont mélangés puis pesés dans un bécher de 100 ml. Après trituration, les selles sont diluées au 1/20 dans l'eau ordinaire ou dans le soluté physiologique (1 g de selle pour 20 ml d'eau) que l'on ajoute progressivement tout en homogénéisant soigneusement. On laisse sédimenter les gros débris quelques secondes, puis on prélève la dilution avec une pipette de 1 ml. On dépose 0,1 ml sur une lame, en deux points séparés ; les deux gouttes sont recouvertes par deux lamelles de 20 x 20 mm et on numère oeufs et larves. Les résultats sont exprimés en nombre d'oeufs et de larves par gramme de selle. Si A est le nombre d'éléments trouvés dans 0,1 ml de la dilution au 1/20, le nombre d'éléments par g de selle = A x 10 x 20.

IV

NUMERATION DES LEUCOCYTES ET DES POLYNUCLEAIRES EOSINOPHILES SANGUINS

La numération absolue des éosinophiles s'avère nécessaire pour apprécier à sa juste valeur l'intensité de l'éosinophilie.

On utilise la méthode de RANDOLPH (1949) qui permet une numération différentielle des polynucléaires éosinophiles et des autres leucocytes grâce à un réactif de dilution - coloration.

a - Réactifs :

Solution A :	Bleu de méthylène	0,05 g
	Propylène glycol	50 ml
	Eau distillée	50 ml.
Solution B :	Phloxine	0,05 g
	Propylène glycol	50 ml
	Eau distillée	50 ml.

Les 2 solutions sont conservées séparément et mélangées à volumes égaux au moment de l'emploi.

b - Matériel :

Pipettes-mélangeurs de POTAIN pour Leucocytes ;
Cellules de MALASSEZ.

c - Technique : lors du prélèvement de sang nécessaire au dosage de la corticostérone, on aspire un peu de sang à la pipette-mélangeur et on fait une dilution au 1/20 avec le réactif de dilution - coloration. Après agitation et rejet des premières gouttes, on introduit la dilution dans la cellule. On laisse

sédimenter un quart d'heure environ ; il ne faut pas attendre trop longtemps car les éosinophiles se décolorent ultérieurement.

Les hématies ne sont plus visibles ; le mélange colore les granulations éosinophiles en rouge et les autres leucocytes en bleu.

On numère les éosinophiles (N) dans toute la cellule et les leucocytes (N') dans 5 bandes.

d - Résultats :

Nombre d'éosinophiles / mm^3 = N x 20

Nombre de leucocytes / mm^3 = N' x 40

V

DOSAGE DES GLUCOCORTICOSTEROIDES PLASMATIQUES

A - CONDITIONS DE PRELEVEMENT DU SANG.

a - Problèmes posés par le prélèvement : nous prélevons par ponction dans le sinus veineux rétroorbitaire et sous anesthésie à l'éther. Ces deux modalités sont des facteurs d'agression, en particulier la deuxième qui a fait l'objet de nombreuses études. C'est pourquoi, nous devons adopter un protocole opératoire rigoureux pour que les effets du "stress" ne viennent pas influencer nos dosages. Aussi, nous avons cherché à connaître le temps limite, après le début de l'anesthésie, pendant lequel doit se faire le prélèvement pour que les effets éventuels du "stress" soient négligeables.

Les changements dynamiques du taux des glucocorticostéroïdes dans le sang périphérique du rat durant les premières minutes après anesthésie à l'éther ont

été peu étudiés. KITAY (1961) montre que le taux augmente déjà fortement dans le sang périphérique 5 minutes après une anesthésie standard à l'éther de 3 minutes.

Par ailleurs, SYDNOR et SAYERS (1954) montrent que deux minutes après exposition à l'éther pendant 45 secondes le taux sanguin de l'A.C.T.H. s'élève légèrement. Ce résultat est confirmé par HODGES et VERNIKOS en 1959.

En outre, LIPSCOMB et NELSON (1960) notent qu'il faut 2 à 4 minutes pour que la corticostérone du sang veineux surrénalien s'élève après une injection d'A.C.T.H. dans la veine jugulaire de rats hypophysectomisés.

En tenant compte de l'ensemble de ces résultats, on peut admettre que les effets du "stress" à l'éther sont négligeables lorsque le prélèvement du sang périphérique est effectué dans les 3 minutes suivant le début de l'inhalation de cet anesthésique. Ceci est confirmé par les résultats obtenus avec nos animaux témoins qui sont restés dans la limite des taux normaux.

b - Matériel :

- Pipettes à prélèvement : ce sont des pipettes PASTEUR de 7,75 mm de diamètre externe, étirées à une extrêmité et qui sont sectionnées de façon nette au niveau où leur diamètre est d'environ 1,5 mm, soit à environ 1 à 2 cm du début de l'étranglement. Ces pipettes sont passées au mélange sulfochromique, abondamment rincées à l'eau distillée puis stérilisées par paquets de 12.

- Tubes à prélèvement héparinés, en matière plastique, dont on a vérifié qu'ils ne sont responsables d'aucune interférence dans les dosages.

- Centrffugeuse.

c - Technique : les prélèvements sont effectués entre 8h 45 et 9h 15, c'est à dire à un moment où dans le cycle nycthéméral de la corticostéronémie du rat, le taux est relativement bas.

Les rats sont rapidement anesthésiés en introduisant un coton imbibé d'éther sulfurique dans leur cage individuelle dont l'étanchéité est assurée par une plaque de verre déposée sur la partie supérieure. Moins de 3 minutes après, le sang est prélevé par ponction dans le sinus veineux rétroorbitaire et recueilli dans les tubes héparinés, puis centrifugé immédiatement pendant 5 minutes à 3 000 tours par minute. Le plasma est immédiatement récupéré et des quantités égales de plasma de chaque rat d'un même lot sont mélangées et stockées dans un tube hépariné à + 4° C, en attendant le dosage. Le stockage n'a jamais excédé 6 heures.

B - DOSAGE DE LA CORTICOSTERONE.

1°) Choix d'une technique . Parmi les nombreuses méthodes de dosage des glucocorticostéroïdes qui permettent d'apprécier le fonctionnement de la corticosurrénale, nous ne pouvons utiliser la méthode de PORTER et SILBER (1950), la corticostérone n'étant pas un 17 hydroxycorticostéroïde.

Les méthodes isotopiques n'étant pas à notre portée, le principe d'une réaction de fluorescence en milieu acide fort (SWEAT,1954) nous paraît intéressant en raison de sa très bonne sensibilité et aussi de sa relative simplicité. Cette réaction est essentiellement le fait des 11 hydroxy Δ_{4-5}, 3 cétostéroïdes libres du plasma (PETERSON,1957 ; DE MOOR et coll.,1962).

Nous avons vu que la corticostérone est le principal glucocorticoïde plasmatique chez le rat et est vingt fois plus abondante que le cortisol. De plus, la fluorescence du cortisol par rapport à celle de la corticostérone varie, selon les conditions

de la réaction, de 20 p. 100 (PETERSON, 1957) à 40 p. 100 (SILBER et coll., 1958 ; MATTINGLY, 1962). Finalement, la fluorescence de la corticostérone représente au moins 91 p. 100 de la fluorescence plasmatique (GUILLEMIN et coll., 1958) et on peut donc considérer que cette technique fluorescimétrique, indépendamment de tout apport exogène de corticoïde, est un dosage de corticostérone plasmatique chez le rat.

Plusieurs méthodes sont décrites, comprenant au moins une extraction des glucocorticoïdes plasmatiques par un solvant organique et la réaction de fluorescence.

Ce type de dosage est employé pour la première fois en 1954 par SWEAT. En 1957, PETERSON publie le premier travail de base sur la fluorescence en milieu acide sulfurique - éthanol ; le dosage est combiné à une méthode de dilution isotopique ; cet auteur précise que les oestrogènes fluorescent dans ces conditions, mais sont éliminés par lavage alcalin.

En 1958, SILBER et coll. proposent une technique simplifiée pour doser la corticostérone du plasma du rat par fluorescimétrie ; ils préconisent une délipidation par l'éther de pétrole ou l'isooctane suivie d'une extraction par le dichlorométhane, elle même suivie d'une deuxième purification par contact ménagé avec la soude. La réaction se fait en milieu acide sulfurique à 80 p. 100. Ces auteurs notent l'existence d'une fluorescence aspécifique équivalente à un taux de 4 à 8 μg de corticostérone pour 100 ml.

GUILLEMIN et coll. (1958, 1959) reprennent cette technique et détectent facilement 0,02 μg de corticostérone ; la récupération est voisine de 100 p. 100 à des concentrations allant de 0,1 μg / ml à 2 μg / ml. Ils trouvent une fluorescence résiduelle de 3,5 à 6,5 μg / 100 ml.

MONCLOA, PERON et DORFMAN (1959) proposent d'éliminer la fluorescence aspécifique par une correction graphique en faisant le dosage sur 3 échantillons différents, ce qui améliore considéra-

blement la spécificité de la réaction.

Par la suite, de nombreuses techniques ont été décrites : en particulier celle de MATTINGLY (1962) chez l'homme, plus simple car ne comportant ni délipidation, ni lavage à la soude, mais moins spécifique.

En 1960, DE MOOR et coll. proposent une technique de dosage du cortisol plasmatique qui nous paraît satisfaisante du point de vue spécificité car elle comprend les quatre temps essentiels du dosage, soit :

- délipidation par l'éther de pétrole,
- extraction par le dichlorométhane,
- lavage par la soude 0,1 N,
- réaction de fluorescence qui utilise un réactif éthanol - acide sulfurique (1/3) dont les proportions procurent le maximum de sensibilité (ROLLET,1968).

Cette technique est applicable au dosage de la corticostérone à condition de tenir compte du fait que la réaction se produit plus lentement pour cette hormone que pour le cortisol : alors que la fluorescence se développe en 5 minutes avec le cortisol, il faut attendre 30 minutes pour la corticostérone (SILBER et coll., 1958 ; STAHL et DORNER,1964 ; ROLLET,1968).

Afin d'améliorer la spécificité, nous effectuons les dosages sur 3 échantillons plasmatiques de volumes différents pour éliminer la fluorescence de base aspécifique (MONCLOA et coll.,1959).

2°) Réactifs .

- Ether de pétrole 60 - 80° C Merck ;
- Dichlorométhane Merck ;
- Ethanol absolu Merck ;
- Acide sulfurique 95 - 97 p. 100 Merck ;
- Soude 0,1 N Titrisol Merck ;
- Réactif de fluorescence :
  Ethanol absolu : 1 volume,
  Acide sulfurique : 3 volumes.

Le mélange est préparé extemporanément par addition ménagée de l'acide sulfurique à l'éthanol absolu en refroidissant sous courant d'eau. Avant son utilisation, laisser reposer le réactif 30 minutes au moins à la température du laboratoire (ROLLET,1968) ;

- Corticostérone Merck ;
- Solution mère de corticostérone à 10 mg / 100 ml, utilisable 1 mois en la maintenant à + 4° C ;
- Solution étalon à 0,5 µ g / ml de corticostérone, préparée extemporanément :
  - Solution mère:0,5 ml,
  - Eau distillée Q.S. 100 ml.

3°) Matériel .

- Fluorescinètre type B Electrosynthèse ;
- Filtres interférentiels : 436 nm ; 534 nm ;
- Centrifugeuse ;
- Agitateur à secousses.

4°) Verrerie .

- Tubes à centrifuger de 25 ml, bouchant émeri ;
- Erlenmeyers 100 ml bouchant émeri ;
- Pipettes de précision ;
- Lavage de la verrerie : la fluorescence en milieu acide exige une verrerie d'une propreté rigoureuse. Il comprend :
  . rinçage à l'eau ordinaire,
  . 15 heures d'immersion dans un mélange sulfochromique,
  . rinçage à l'eau ordinaire,
  . rinçage à l'eau distillée,
  . séchage à l'étuve et conservation à l'abri des poussières.

5°) Technique .

a - Délipidation : dans un tube à centrifuger, introduire :

Plasma	4 ml,
Eau distillée	2 ml,
Ether de pétrole	15 ml.

Agiter énergiquement une minute. Centrifuger 3 minutes à 1 500 t. / mn. Eliminer le surnageant.

b - Extraction : elle porte sur 3 échantillons de plasma délipidé représentant 0,75 ml, 1,5 ml et 2,25 ml correspondant respectivement à 0,5 ml, 1 ml et 1,5 ml de plasma pur.

Un blanc d'eau distillée et deux étalons corticostérone de même valeur sont traités dans les mêmes conditions.

L'emploi constant de deux étalons de même valeur se justifie pour deux raisons étant donné le type de fluorescimètre que nous employons :

- Cet appareil ne permet pas de faire le zéro donc de tracer une courbe étalon de référence, d'où nécessité d'un étalonnage lors de chaque manipulation ;

- Nous avons établi que les graphiques fluorescence/dose passent par l'origine des coordonnées et sont linéaires dans les limites des concentrations hormonales physiopathologiques (jusqu'à 100 μg / 100 ml) ; nous considérons que l'on obtient le maximum de précision en déterminant deux fois la fluorescence correspondant à une quantité donnée plutôt que de la mesurer une seule fois pour deux doses différentes.

Dans 6 erlenmeyers introduire les réactifs sous les volumes (ml) indiqués dans le tableau suivant :

	Blanc	Etalons		Dosages		
	B	E_1	E_2	$D_{0,5\ ml}$	$D_{1\ ml}$	$D_{1,5ml}$
Plasma dilué aux 2/3, et délipidé	0	0	0	0,75	1,5	2,25
Solution étalon (0,5 µg / ml)	0	0,4	0,4	0	0	0
Eau distillée	3	2,6	2,6	2,25	1,5	0,75
Dichlorométhane	15	15	15	15	15	15

Sur l'agitateur réglé à une vitesse déterminée, agiter pendant une minute, en deux fois 30 secondes, avec un repos de 30 secondes entre chaque agitation. Transvaser le contenu des erlenmeyers dans des tubes à centrifuger.

Le transvasement rompt les émulsions éventuelles.

Prélever la couche aqueuse surnageante pour l'éliminer.

c - Lavage alcalin : ajouter 1 ml de soude 0,1 N dans chaque échantillon. Agiter doucement par retournement pendant une dizaine de secondes. Centrifuger 2 mn à 1 500 t./ mn. Eliminer le surnageant.

d - Réaction de fluorescence : prélever 10 ml de phase organique. Les introduire dans six erlenmeyers. De minute en minute, ajouter dans chaque erlenmeyer 5 ml de réactif éthanol-sulfurique et agiter violemment pendant 30 secondes avant de passer à l'échantillon suivant.

e - Lecture de la réaction : 30 mn après la fin de l'agitation de chaque échantillon, on lit la fluorescence de la phase éthanol-sulfurique.

Longueur d'onde d'excitation : 436 nm,
Longueur d'onde de fluorescence : 534 nm.

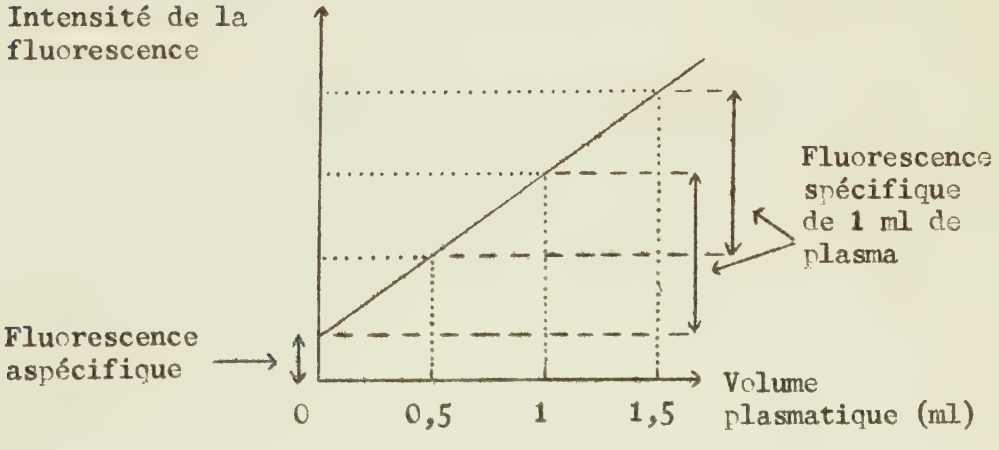
f - Expression des résultats : de chaque valeur trouvée, on enlève la valeur de la fluorescence du blanc, puisque l'appareil ne comporte pas de mise au zéro.

Puis on élimine la fluorescence aspécifique selon la méthode de rectification de MONCLOA et coll. (1959). On dresse la courbe de l'intensité de la fluorescence en fonction du volume plasmatique, qui coupe l'axe des ordonnées au-dessus de l'axe des abscisses en un point dont l'ordonnée représente la fluorescence aspécifique.

On détermine alors la fluorescence spécifique de 1 ml de plasma, soit en soustrayant la fluorescence aspécifique de la fluorescence totale, donnée sur le graphique pour 1 ml de plasma, soit, si les 3 points sont parfaitement alignés, en soustrayant la fluorescence totale donnée par 0,5 ml de la fluorescence totale donnée par 1,5 ml de plasma.

En comparant cette valeur à la moyenne donnée par les deux étalons contenant 0,2 µg de corticostérone et correspondant à une concentration de 20 µg / 100 ml, on en déduit le taux de corticostérone :

$$(\mu g / 100 \text{ ml}) = \frac{\text{Fluorescence spécifique de 1 ml}}{\text{Fluorescence de l'étalon}} \times 20.$$



C - DOSAGE DU CORTISOL.

Dans l'une de nos expérimentations comportant des injections d'acétate de cortisol aux rats, nous sommes amenés à évaluer la cortisolémie. Nous utilisons la technique décrite pour la corticostérone, mais en travaillant avec des étalons de cortisol (cortisol Roussel Uclaf).:

- Solution mère de cortisol à 10 mg / 100 ml, utilisable un mois en la maintenant à + 4° C.

- Solution étalon à 0,5 µg / ml de cortisol, préparée extemporanément :

Solution mère : 0,5 ml,
Eau distillée Q.S. 100 ml.

- Elle permet de préparer des étalons de la réaction :

Solution à 0,5µg/ ml : 0,8 ml,
Eau distillée : 2,2 ml.

Ces étalons contiennent 0,4 µg de cortisol ; dans ces conditions, la formule permettant de calcul des résultats devient :

$$\text{Taux de cortisol } (\mu g / 100 \text{ ml}) = \frac{\text{Fluorescence spécifique de 1 ml}}{\text{Fluorescence de l'étalon}} \times 40.$$

VI

SEPARATION DU CORTISOL ET DE LA CORTICOSTERONE PLASMATIQUES

1°) Choix de la technique . Dans certaines de nos expérimentations, nous administrons de l'acétate de cortisol aux rats et il est nécessaire de connaître la nature des corticostéroïdes que nous dosons. Nous avons donc envisagé de séparer le cortisol de la corticostérone.

Les techniques sont nombreuses ; leurs principes reposent :

- soit sur la différence des coefficients de partage entre deux solvants : on peut citer en particulier la technique de VAN DER VIES . (1961), adaptée en 1968 par ROLLET;

- soit sur la différence des cinétiques de fluorescence en milieu sulfurique (STEWART et coll., 1961 ; STAHL et DORNER, 1964 ; PELLETIER et LABRIE, 1966 ; SCEMANA, 1967);

- soit sur la chromatographie (EECHAUTE, 1966 ; NAHOUL et SCHOLLER, 1971,...).

Nous avons choisi la méthode par chromatographie en couche mince, en raison de sa spécificité plus rigoureuse et de sa relative facilité d'exécution.

Nous nous référons à la technique décrite par NAHOUL et SCHOLLER (1971) en l'adaptant au rat.

2°) Réactifs .

- Dichlorométhane Merck,
- Chloroforme Merck,
- Soude 0,1 N Titrisol Merck,
- Acide sulfurique 95 - 97 p. 100 Merck,
- Ethanol absolu Merck,
- Plaques à chromatographie Merck, 20 x 20 cm, recouvertes de gel de silice non fluorescent, prêtes à l'emploi. Dans les 48 heures avant utilisation, ces plaques sont réactivées à l'étuve à 110° C, 15 mn.

- Stéroïdes utilisés : cortisol Roussel UCLAF,
corticostérone Merck,

en solution à 10 mg / 100 ml dans l'éthanol absolu.

3°) Matériel . En plus du matériel nécessaire aux prélèvements et aux extractions, cité lors du dosage des corticostéroïdes, on utilise :

- cuve standard pour chromatographie en couche mince ;
- bain - marie 37° C,

- dispositif d'évaporation sous courant d'azote,
- micropipettes de 10 µl,
- pulvérisateur.

4°) Technique .

a - Extraction des corticostéroïdes : dans deux erlenmeyers de 100 ml, bouchant émeri, introduire :

	Essai	Blanc
Eau distillée (ml)	0	3
Plasma (ml)	3	0
Dichlorométhane (ml)	15	15

Agitation rapide sur l'agitateur pendant une minute ; transvaser le contenu dans un tube à centrifuger bouchant émeri ; éliminer la phase aqueuse.

b - Lavage alcalin : introduire dans chaque tube 1 ml de soude 0,1 N ; agiter doucement par retournements pendant 10 secondes ; centrifuger 2 mn à 1 500 t./ mn ; éliminer la phase aqueuse.

c - Evaporation : reprendre 12 ml de phase organique environ ; évaporer à sec dans un tube à centrifuger sous courant d'azote à 37° C.

d - Fractionnement : reprendre les résidus d'évaporation par deux gouttes de mélange chloroforme - éthanol 1/1 (volume).

Chaque extrait ainsi que 1 µg (10 µl) de cortisol et de corticostérone témoins sont déposés sur la plaque. Les dépôts se font sur une même ligne à 2 cm du bas de la plaque et à 3 cm les uns des autres. Ils sont fractionnés par prises de 5 µl au maximum en attendant que le dépôt précédent soit sec, afin d'éviter une diffusion trop importante.

Le solvant de migration est un mélange chloroforme-éthanol 8/2 (volume) qu'on verse sur une hauteur de 1 à 1,5 cm dans la cuve. Les parois de celle-ci ont été préalablement recouvertes intérieurement de papier filtre pour assurer une bonne saturation atmosphérique.

Celle-ci étant homogène quelques minutes après agitation du mélange dans la cuve, on introduit les plaques et on laisse la migration se faire sur 15 cm, puis on retire les plaques qu'on laisse sécher quelques minutes.

e - Révélation : le réactif de révélation est l'acide sulfurique concentré (RANDERATH, 1964). On le pulvérise sur les plaques disposées sous une hotte aspirante ; puis celles-ci sont mises à l'étuve à 110° C pendant 15 minutes. On laisse refroidir et on examine les plaques sous une lampe à Ultra-violets (365 nm). On repère les taches par leur fluorescence, par rapport aux témoins.

T R O I S I E M E P A R T I E

INFLUENCE DES CONDITIONS EXPERIMENTALES SUR L'EVOLUTION DE *STRONGYLOIDES RATTI* CHEZ LE RAT

Dans cette première série d'expérimentations, il nous paraît important de préciser deux types de facteurs susceptibles d'influencer l'évolution parasitaire, et de déterminer les conditions expérimentales qui seront à la base de nos travaux ultérieurs.

Ces essais viseront à déterminer la dose infestante à utiliser et l'influence éventuelle des prélèvements sanguins sur l'évolution parasitaire.

I

INFLUENCE DE LA DOSE INFESTANTE SUR LE PARASITISME

Dans un premier temps nous essayons de déterminer une dose infestante non létale.

Dans un deuxième temps nous étudions l'évolution du parasitisme en fonction du nombre de larves filariformes.

A - DETERMINATION D'UNE DOSE INFESTANTE NON LETALE .

Dans cette expérience nous devons établir des conditions expérimentales compatibles avec la survie des animaux, conditions qui seront définies pour la souche de rat et la souche de Strongyloides ratti utilisées. Il nous paraît aussi nécessaire de rapporter ici les modifications qui surviennent tant dans le comportement des rats que dans les manifestations cutanéomuqueuses qu'ils peuvent présenter.

a - Constitution des lots : 9 rats mâles, E.O.P.S., de 220 à 230 g sont répartis en 3 lots :

Lot 1 : 3 rats - Infestation par 12.000 larves/rat;

Lot 2 : 3 rats - Infestation par 15.000 larves/rat;

Lot 3 : 3 rats - Infestation par 20.000 larves/rat.

Le jour de l'infestation est pris comme origine et défini par le nombre 0.

Les animaux sont observés pendant les cinq jours qui suivent l'infestation, période pendant laquelle apparaît éventuellement le caractère létal de la dose infestante.

b - Résultats :

Temps / Jours \ Doses infestantes	12.000 larves	15.000 larves	20.000 larves
1	Rien à signaler	Rien à signaler	Erythème nasal
2	Rien à signaler	Rien à signaler	Erythème nasal
3	Rien à signaler	Légère irritabilité	Irritabilité Prostration
5	Rien à signaler	Rien à signaler	2 rats décédés 1rat normal

c - Conclusion : l'intensité de l'infestation devra être inférieure à 20.000 larves par rat et ne pas dépasser un chiffre voisin de 15.000 larves, dose qui ne provoque aucune mortalité.

B - EVOLUTION DU PARASITISME EN FONCTION DE LA DOSE INFESTANTE .

Dans cette expérimentation, nous voulons voir si le phénomène de "self-cure" se manifeste pour n'importe quelle dose infestante, et choisir ainsi les modalités d'infestation susceptibles de fournir l'évolution parasitaire la plus caractéristique.

Nous travaillons selon deux protocoles : dose massive non létale et dose faible.

1°) Infestation massive non létale . Ce travail est associé à l'étude des variations du poids des animaux, afin de voir si une dose massive n'entraînant pas de manifestations extériorisées de la part des animaux, n'a pas toutefois des retentissements plus discrets et traduisant une certaine souffrance.

a - Constitution des lots : 20 rats mâles, E.O.P.S., sont répartis en deux lots :

- 1 lot épreuve, infesté, de 10 rats,
- 1 lot témoin, non infesté, de 10 rats.

b - Infestation : 14.000 larves par rat ; le jour de l'infestation est pris comme origine et défini par le nombre 0.

c - La dissémination parasitaire fécale est suivie 3 fois par semaine par la coprologie.

d - Les animaux sont pesés le jour 0, juste avant l'infestation, puis une fois par semaine.

e - Résultats (Tableau I, graphique 1) :

- Parasitisme : chez les animaux infestés, la coprologie est négative au 4ème jour d'évolution ; elle se positive au 5ème jour. L'élimination parasitaire augmente alors rapidement pour atteindre un maximum au 7ème jour avec 187.000 éléments par g de selle ; ensuite la dissémination fécale diminue presque aussi rapidement entre le 8ème et le 16ème jour, puis plus lentement pour s'annuler aux environs du 23 ème jour.

- Poids du corps : alors que les animaux témoins voient leur poids augmenter régulièrement, les animaux infestés maigrissent au début de l'infestation, pour reprendre ensuite une évolution comparable à celle des témoins, tout en accumulant un certain retard pondéral.

N.B. : les animaux n'ont présenté aucune réaction cutanée, ni manifesté d'irritabilité particulière.

f - Conclusions : l'évolution du parasitisme chez le rat se fait en 23 jours environ. Elle est caractérisée par un déparasitage spontané à partir du 8ème - 9ème jour. Ce phénomène est communément dénommé "Self-cure".

Ces résultats sont conformes à ceux précédemment établis par ROMAN (1956, 1964) et ORECCHIONNI-EMMANUELLI (1969).

La première semaine de parasitisme semble avoir le plus de conséquences pathologiques pour l'animal, celui-ci perdant du poids, voire présentant des manifestations externes plus spectaculaires et même succombant en cas d'infestation trop massive, comme nous l'avons vu précédemment.

2°) Infestation réduite . Alors qu'une infestation importante, aussi bien avec Nippostrongylus brasiliensis qu'avec Strongyloides ratti, permet un déparasitage spontané, JARRETT et coll. (1968) montrent qu'il existe chez Nippostrongylus brasiliensis un seuil de 40 vers adultes dans l'intestin en dessous duquel la "self-cure" ne se produit pas. Il paraît intéressant de voir si ce phénomène existe aussi pour Strongyloides ratti car la "self-cure" représente le support de notre étude et nous devons donc déterminer les limites dans lesquelles elle se produit.

a - Constitution des lots : 3 lots de 5 rats mâles, E.O.P.S., de 250 g sont respectivement infestés, le jour 0, par 50, 100, 1.000 larves par rats.

b - L'évolution du parasitisme est suivie par la coprologie.

TABLEAU I

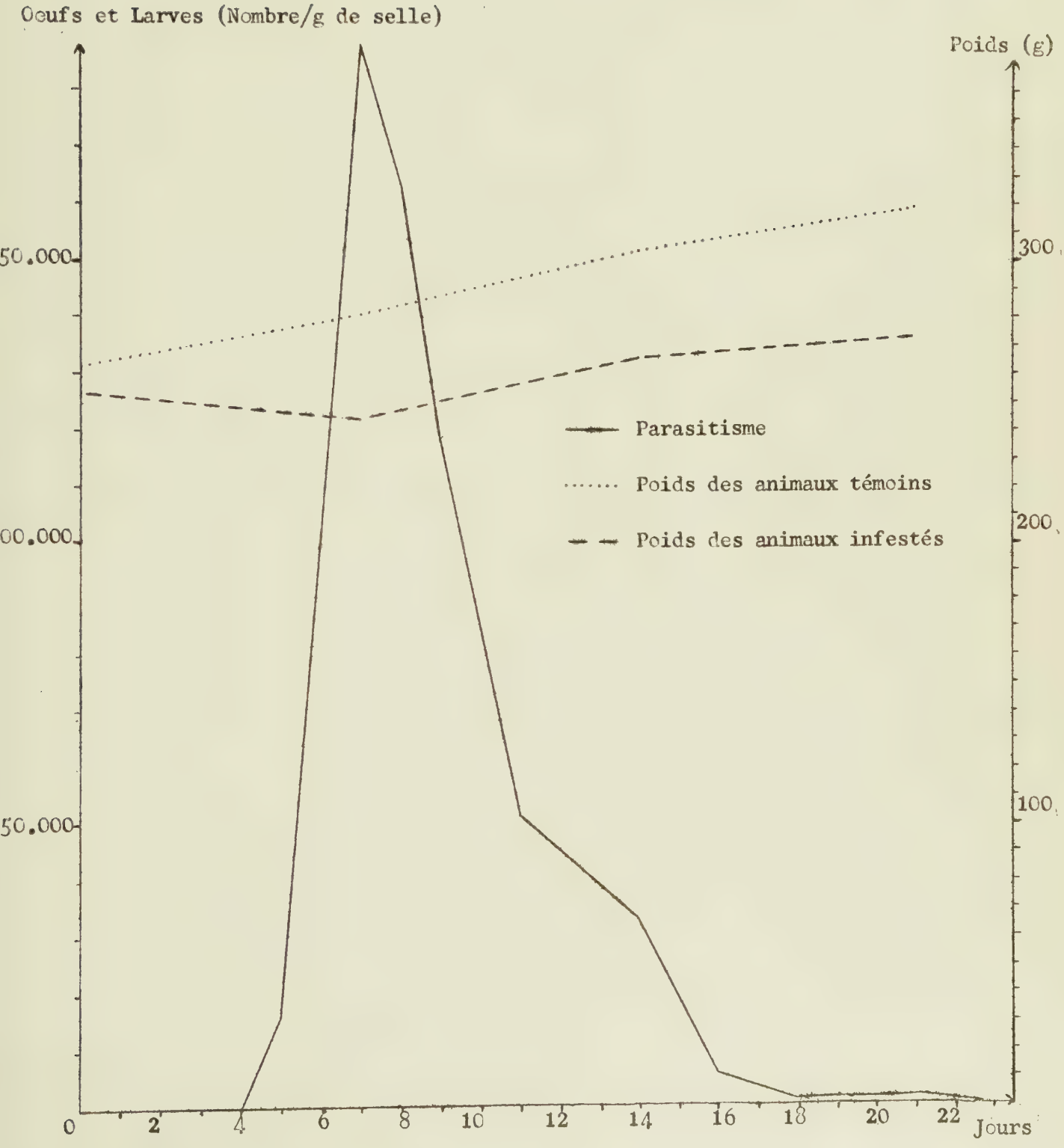
EVOLUTION DU PARASITISME
ET DU POIDS DE CORPS CHEZ DES RATS INFESTES
PAR 14.000 LARVES DE STRONGYLOIDES RATTI

Temps (Jours)	Oeufs et Larves (Nbre./ g de selle)	Poids (grammes) Témoins	Epreuves
0		263,5	253,5
4	0		
5	16.000		
7	187.800	281 g	244 g
8	162.600		
9	118.000		
11	51.600		
14	33.200	303 g	265,5 g
16	6.000		
18	1.600		
21	1.800	319 g	273 g
23	0		

GRAPHIQUE I

EVOLUTION DU PARASITISME ET DU POIDS

(INFESTATION PAR 14.000 LARVES)



c - Résultats (Tableau II, graphique 2):

- Infestation par 1.000 larves : la courbe d'évolution présente un aspect à peu près comparable à celui que l'on observe lors des infestations à 15.000 larves. Le pic d'élimination des oeufs et des larves est légèrement retardé avec un maximum situé entre le 10ème et le 13ème jour. Le déparasitage complet est réalisé au 25ème jour.

- Infestation par 100 larves : l'intensité de la dissémination fécale est beaucoup plus basse que lors de l'infestation par 1.000 larves. On n'obtient pas de pic aigü, mais la valeur la plus élevée est trouvée au 10ème jour. Puis le taux décroît progressivement pour s'annuler au 23ème jour. Le contrôle de la coprologie est négatif par la suite sauf au 34ème jour.

- Infestation par 50 larves : au début de l'évolution, la dissémination fécale est inférieure à celle de l'expérimentation précédente. On n'enregistre pas de pic d'élimination, mais des valeurs irrégulières, s'annulant parfois. Au 40ème jour d'évolution, la coprologie est positive pour la dernière fois.

d - Conclusions : bien que le déparasitage complet soit beaucoup plus tardif chez les animaux infestés par 50 larves, voire 100 larves, que chez les animaux infestés à dose massive, il semble que la "self-cure" se développe quelle que soit la dose administrée. La dissémination fécale de ces deux lots est réduite et ne présente pas de variations marquées. Ce mode d'infestation ne semble donc pas susceptible de fournir un support expérimental valable pour nos expérimentations ultérieures.

Les animaux infestés par 1.000 larves montrent une évolution qui se rapproche beaucoup plus de celle des animaux infestés massivement, mais avec un pic de dissémination parasitaire plus bas, plus étalé, et retardé.

Il nous semble donc préférable d'adopter une infestation à dose massive non létale qui donne l'évolution la plus caractéristique avec différentes phases bien tranchées et dont les modifications seront plus aisées à interpréter.

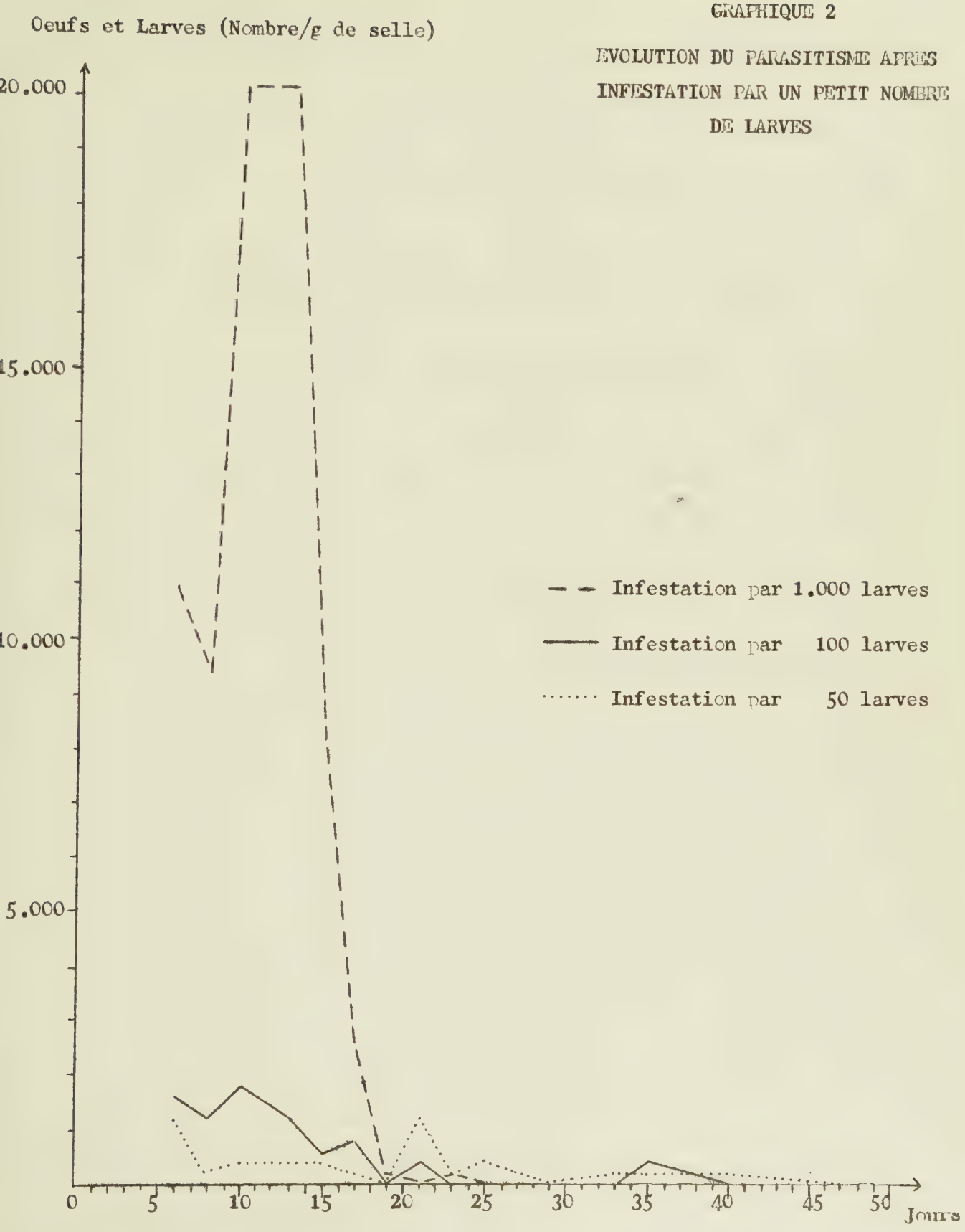
TABLEAU II

EVOLUTION DU PARASITISME
APRES INFESTATION PAR UN PETIT NOMBRE DE LARVES

Temps	1.000 larves	100 larves	50 larves
(jours)	Nombre d'oeufs et de larves par gramme de selle		
0	11.000	1.600	1.200
3	9.400	1.200	200
10	20.200	1.800	400
13	20.200	1.200	400
15	8.200	600	400
17	2.600	800	200
19	200	0	0
21	0	400	1.200
23	200	0	200
25	0	0	400
27	0	0	200
29	0	0	0
33	0	0	200
35	0	400	200
40	0	0	200
47	0	0	0
49	0	0	0
54	0	0	0
56	0	0	0
61	0	0	0

GRAPHIQUE 2

EVOLUTION DU PARASITISME APRES INFESTATION PAR UN PETIT NOMBRE DE LARVES



II

EFFETS DES PRELEVEMENTS SANGUINS SUR LE PARASITISME

Avant d'entreprendre des dosages de corticostérone sur des animaux parasités, nous devons voir dans quelle mesure les ponctions veineuses peuvent influencer l'évolution du parasitisme.

a - Constitution des lots : 20 rats mâles, H.C.P.S., de 285 g sont répartis en 2 lots de 10 rats :

. 1 lot éprouvé, infesté, sur lequel on fait deux prélèvements sanguins par semaine, régulièrement espacés ;

. 1 lot témoin, infesté.

b - Infestation (jour 0) : 9.000 larves.

c - L'évolution du parasitisme est régulièrement suivie par la coprologie sur les deux lots.

d - Résultats (Tableau III, graphique 3) : les deux lots ont une évolution comparable. Si la coprologie est encore négative au 4ème jour d'infestation, un deuxième prélèvement la trouve positive au 7ème jour et on enregistre alors les taux les plus élevés dans les deux lots. Puis la dissémination fécale diminue rapidement ; la coprologie est négative au 25ème jour de parasitisme pour les deux lots.

e - Conclusion : les prélèvements sanguins ne semblent pas perturber l'évolution du parasitisme.

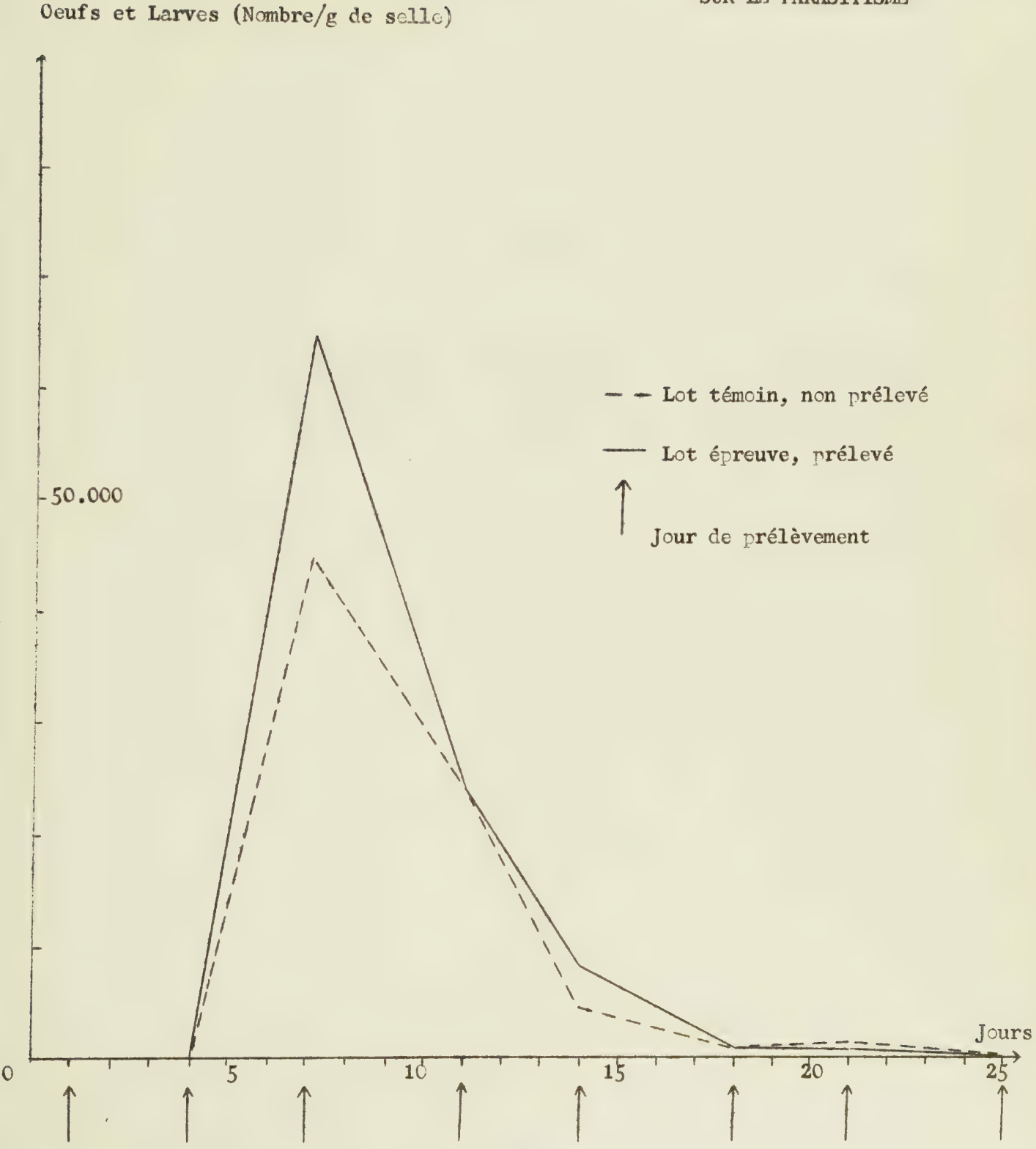
TABLEAU III

EFFETS DES PRELEVEMENTS SANGUINS SUR LE PARASITISME

Temps (jours)	Nombre d'oeufs et de larves/g selle		Prélèvements sur le lot épreuve
	Lot Témoin	Lot Epreuve	
1			+
4	0	0	+
7	45.000	64.600	+
11	24.000	23.800	+
14	4.500	8.200	+
18	600	600	+
21	1.400	600	+
25	0	0	+

GRAPHIQUE 3

EFFETS DES PRELEVEMENTS SANGUINS SUR LE PARASITISME



Q U A T R I E M E P A R T I E

INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION DES GLUCOCORTICOIDES SUR L'EVOLUTION DU PARASITISME ET DES PARAMETRES SANGUINS (GLUCOCORTICOSTEROIDEMIE, LEUCOCYTOSE, EOSINOPHILIE)

Dans cette série d'expérimentations sur Strongyloides ratti, nous voulons nous assurer que l'administration des glucocorticoïdes peut empêcher le déparasitage spontané comme ceci a lieu pour d'autres parasitoses à Nématodes.

Comme glucocorticoïdes nous choisissons, à l'instar d'autres auteurs, le cortisol et la cortisone, mais surtout la corticostérone qui représente la véritable hormone physiologique du Rat.

Au cours de ces traitements, nous suivons l'évolution des glucocorticoïdes plasmatiques ainsi que celle des leucocytes et des polynucléaires éosinophiles.

Toutefois, dans un premier temps, pour préciser les données expérimentales, nous étudions le parasitisme seul, en fonction de la nature et de la dose des corticoïdes injectés, puis nous y associons l'étude des paramètres sanguins.

I

EVOLUTION DU PARASITISME

Nous étudions l'influence de l'administration de 3 corticoïdes : la cortisone et le cortisol, glucocorticoïdes les plus utilisés expérimentalement, et la corticostérone, principale hormone physiologique du rat.

A - EXPERIENCE I.

Dans cet essai préliminaire, nous voulons déterminer l'ordre de grandeur des doses de glucocorticoïdes à injecter pour empêcher le déparasitage spontané. Nous étudions tout d'abord les effets de l'acétate de cortisone principalement, et de façon moindre

ceux de l'acétate de corticostérone.

a - Constitution des lots : 5 lots de 5 rats mâles.

b - Infestation (jour 0) : 15.300 larves.

c - Traitement : injections intramusculaires de glucocorticoïdes dans la cuisse, alternativement du côté droit ou du côté gauche, à l'aide de seringues de 1 ml graduées au 1/100 et d'aiguilles pour injection intramusculaire 30 - 7/10, le tout stérile.

Nous commençons les injections juste avant le début de la "self-cure" qui se situe aux environs du 8ème jour de l'évolution parasitaire ; dans ces conditions, les périodes d'injections s'étalent du 8ème au 37ème jour inclus, à raison de 6 injections par semaine (1 par jour) sur chaque lot.

d - Nature des glucocorticoïdes utilisés :

. Acétate de cortisone micronisé (M.) en suspension à 25 mg/ml, conditionné sous le nom de "Cortisone Roussel", spécialité pharmaceutique contenant en outre 2 mg/ml de chloramphénicol.

Pour l'administration, on dilue aux 2/5 la suspension avec de l'eau distillée stérile ; on ramène donc les concentrations à 10 mg/ml d'acétate de cortisone et à 0,80 mg/ml de chloramphénicol.

. Acétate de corticostérone Merck, cristallisé, pulvérisé (P.) dans un mortier stérile avant l'emploi et mis en suspension à une concentration de 10 mg/ml avec une solution de chloramphénicol à 0,8 mg/ml dans l'eau distillée stérile.

e - Doses des glucocorticoïdes :

. Acétate de cortisone (M.) : 4 mg/kg : Lot 1 .
8 mg/kg : Lot 2 .
16 mg/kg : Lot 3 .

. Acétate de corticostérone (P.) :
8 mg/kg : Lot 4 .

Chaque animal du lot témoin (Lot T) reçoit 1,6 ml/kg d'excipient (solution aqueuse de chloramphénicol), c'est-à-dire le volume maximum injecté au lot 3 .

f - Résultats (Tableau IV, graphiques 4 et 4 bis):

Le lot témoin nous permet de noter que le chloramphénicol ne semble pas modifier l'allure de l'évolution parasitaire telle que nous l'avons tracée précédemment (3ème partie) ; le maximum de la dissémination parasitaire se situe au 8ème jour, date du début des traitements.

- Acétate de cortisone micronisé :

. 4 mg/kg n'influencent pas l'évolution parasitaire ;

. 8 et 16 mg/kg empêchent le déparasitage spontané ; le maintien de l'élimination parasitaire se situe toutefois à des niveaux différents selon la dose injectée : l'élimination moyenne des oeufs et larves/g de selle ($\pm$ l'écart type), calculée pour toute la durée du traitement est de 36.400 $\pm$ 23.100 (8 mg/kg) contre 63.400 $\pm$ 19.300 (16 mg/kg). L'arrêt des injections permet au phénomène de "self-cure" de se développer. Toutefois, 48 heures après l'interruption des injections on ne note pas de variations importantes et même, paradoxalement, une augmentation de la dissémination parasitaire dans le lot 2 (A. de cortisone, 8 mg/kg).

La coprologie du lot 2 est négative 8 jours après, et celle du lot 3, 12 jours après l'arrêt des injections.

On peut donc remarquer que la "self-cure" est alors particulièrement rapide.

- Acétate de corticostérone pulvérisé : 8 mg/kg ne modifient pas l'évolution parasitaire.

En résumé :

L'acétate de cortisone micronisé à 4 mg/kg/jour et l'acétate de corticostérone pulvérisé à 8 mg/kg/jour en injection intramusculaire 6 fois par semaine ne peuvent empêcher le déparasitage spontané du rat infesté, par Strongyloides ratti.

L'acétate de cortisone micronisé à 8 mg/kg et à 16 mg/kg, administrés dans les mêmes conditions, réussissent à empêcher la "self-cure" tout le temps de leur administration.

A posologie égale l'acétate de cortisone se révèle plus actif que l'acétate de corticostérone, encore qu'il faille tenir compte d'une influence possible de l'état : pulvérisé ou micronisé.

TABLEAU IV : EVOLUTION DU PARASITISME APRES INJECTIONS DE GLUCOCORTICOIDES :

Expérience I

Temps (jours)	Nombre d'oeufs et de larves par gramme de selle				
	Lot T Excipient 1,6 ml/kg	Lot 1 Cortisone A.M.* 4 mg/kg	Lot 2 Cortisone A.M.* 8 mg/kg	Lot 3 Cortisone A.M.* 16 mg/kg	Lot 4 Corticostérone A*P* 8 mg/kg
4	0	0	0	0	0
5	13.900	13.900	13.900	13.900	13.900
7	50.500	55.000	68.800	43.600	72.900
8	65.200	95.000	109.400	78.000	95.600
10	50.000	50.200	101.400	86.000	66.000
12	38.600	43.200	44.000	60.000	47.600
13					
15	12.000	28.800	21.000	89.200	19.400
17	4.000	14.000	30.000	49.200	3.400
19	0	11.500	26.400	28.600	600
20					
21	200	1.800	31.400	88.400	200
22	200	400	41.200	39.200	400
24	0	0	28.200	67.400	200
26	200	600	46.800	73.000	200
27					
29	200	0	9.200	70.000	200
33	200		21.600	55.000	0
34					
36	0		36.000	54.200	0
37					
39			64.000	38.600	
42			7.000	5.200	
45			0	2.000	
49			0	0	

═══ : Début et fin du traitement,

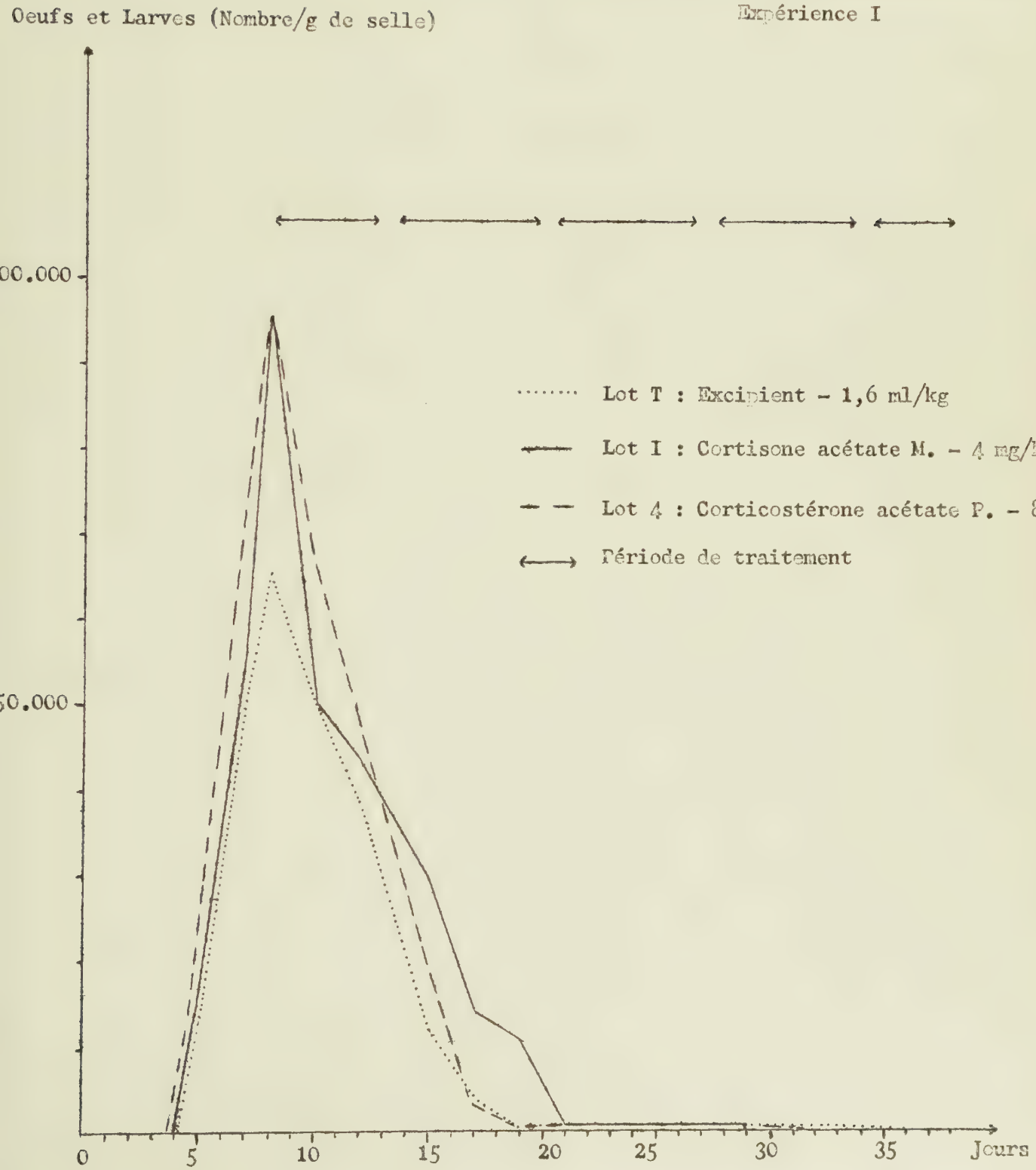
- - - - : Interruption du traitement pendant 24 heures,

* A = Acétate ; M = Micronisé ; P = Pulvérisé.

GRAPHIQUE 4

EVOLUTION DU PARASITISME APRES INJECTIONS DE GLUCOCORTICOIDES

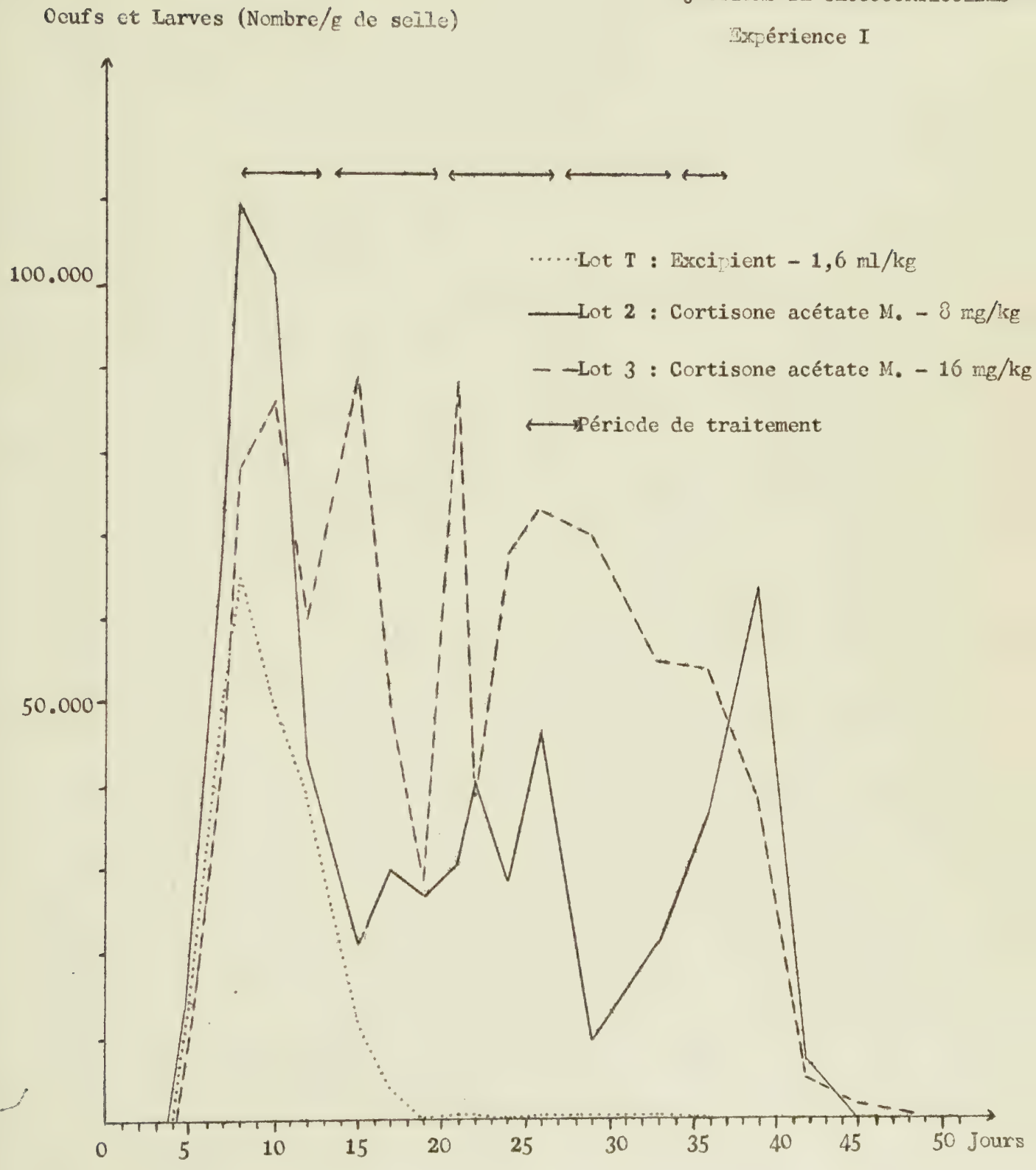
Expérience I



GRAPHIQUE 4 bis

EVOLUTION DU PARASITISME APRES INJECTIONS DE GLUCOCORTICOIDES

Expérience I



B - EXPERIENCE II.

Dans cette série d'épreuves, nous avons plusieurs objectifs :

- Vérifier l'activité de l'acétate de cortisone à la dose de 16 mg/kg efficace dans l'expérience précédente, tout en étudiant l'influence de l'état en remplaçant la forme micronisée par une forme pulvérisée ;

- Déterminer la dose d'acétate de corticostérone susceptible d'empêcher le déparasitage spontané ;

- Faire une étude supplémentaire sur l'acétate de cortisol.

a - Constitution des lots : 6 lots de 5 rats, mâles, E.O.P.S., de 240 g.

b - Infestation (Jour 0) : 14.000 larves.

c - Traitement : les injections se font dans les mêmes conditions que dans l'expérience I, du 7ème au 45ème jour inclus.

Nous avançons d'un jour le début des injections afin d'essayer d'éviter la chute temporaire de la dissémination parasitaire précédemment constatée.

d - Nature des glucocorticoïdes utilisés:

. Acétate de cortisone Roussel, pulvérisé (P.) ;
. Acétate de corticostérone Merck, pulvérisé ;
. Acétate de cortisol Roussel, micronisé (M.).

Les corticoïdes sont mis en suspension dans une solution de chloramphénicol à 80 mg/100 ml dans l'eau distillée stérile, par trituration dans un mortier stérile, ce qui réalise une pulvérisation complémentaire pour les 2 premières formes. Nous maintenons la présence de chloramphénicol dans l'excipient, à la même concentration, pour que les conditions d'expéri-

mentations soient comparables.

e - Doses et concentrations des glucocorticoïdes:

Corticoïde	Doses	Concentrations	N° du lot
Cortisone (Acétate) P.	16 mg/kg	10 mg/ml	1
Corticostérone (Acétate) P.	16 mg/kg	10 mg/ml	2
Corticostérone (Acétate) P.	40 mg/kg	20 mg/ml	3
Cortisol (Acétate) M.	4 mg/kg	10 mg/ml	4
Cortisol (Acétate) M.	8 mg/kg	10 mg/ml	5

Le lot témoin (Lot T) reçoit l'excipient à raison de 2 ml/kg, soit la quantité maximum administrée au lot 3.

f - Résultats (Tableau V, graphiques5 et 5 bis):

- Acétate de cortisone pulvérisé (16 mg/kg) : la "self-cure" est tout d'abord interrompue du 9ème au 14ème jour, puis elle reprend de façon irréversible, laissant toutefois persister un parasitisme résiduel peu intense.

- Acétate de corticostérone pulvérisé :

. 16 mg/kg permettent une évolution voisine de celle des témoins tout en maintenant un parasitisme résiduel se traduisant par l'élimination ininterrompue d'un petit nombre d'éléments.

. 40 mg/kg: après le maximum de dissémination fécale coïncidant avec le début des injections, on observe une courte période pendant laquelle les valeurs trouvées à la coprologie sont plus faibles. Mais l'élimination des oeufs et des larves retrouve son importance rapidement et les valeurs oscillent avec des variations importantes. L'administration des corticoïdes empêche la "self-cure" tout au long du traitement.

L'arrêt des injections provoque un pic d'élimination

parasitaire très important au 47ème jour comme le montre le graphique ; la "self-cure" est ensuite très rapide et la coprologie est négative au 60ème jour.

- Acétate de cortisol micronisé :

4 mg/kg : l'aspect du parasitisme est celui précédemment noté avec 16 mg/kg d'acétate de corticostérone pulvérisé : l'évolution est voisine de celle des témoins, mais il y a maintien d'un parasitisme résiduel.

8 mg/kg : les résultats sont comparables à ceux que nous ont permis de noter 40 mg/kg d'acétate de corticostérone pulvérisé.

En résumé :

. 16 mg/kg/jour d'acétate de corticostérone pulvérisé et 4 mg/kg/jour d'acétate de cortisol micronisé n'empêchent pas la "self-cure", mais laissent persister un parasitisme discret.

. 16 mg/kg/jour d'acétate de cortisone pulvérisé n'empêchent que momentanément le déparasitage spontané.

. 40 mg/kg/jour d'acétate de corticostérone pulvérisé et 8 mg/kg/jour d'acétate de cortisol micronisé permettent le maintien du parasitisme tout au long de leur administration.

Pour interpréter l'augmentation provisoire de l'élimination des oeufs et des larves intervenant juste après l'arrêt des injections, on pourrait envisager 2 hypothèses:

. Un effet nocif des glucocorticoïdes à haute dose sur le métabolisme du ver en relation avec l'ovogénèse entraînerait une diminution partielle de celle-ci tout le temps de leur administration.

. L'effet immunodépresseur et anti-inflammatoire des glucocorticoïdes à haute dose ralentirait l'expulsion des oeufs à travers la muqueuse intestinale, provoquant une certaine accumulation.

Ces deux théories permettraient d'expliquer l'accroissement brutal de l'élimination des oeufs précédant la "self-cure", soit par une reprise temporaire de l'ovogénèse (1ère hypothèse), soit par une expulsion brusque des oeufs accumulés dans la muqueuse pendant toute la période de dépression immunologique, cette expulsion étant provoquée par le développement de la réaction immunitaire (2ème hypothèse).

Le même raisonnement permettrait aussi d'expliquer la chute temporaire de l'élimination des oeufs qui s'observe au début de l'administration des glucocorticoïdes.

TABLEAU V : EVOLUTION DU PARASITISME APRES INJECTIONS DE GLUCOCORTICOIDES

Expérience II

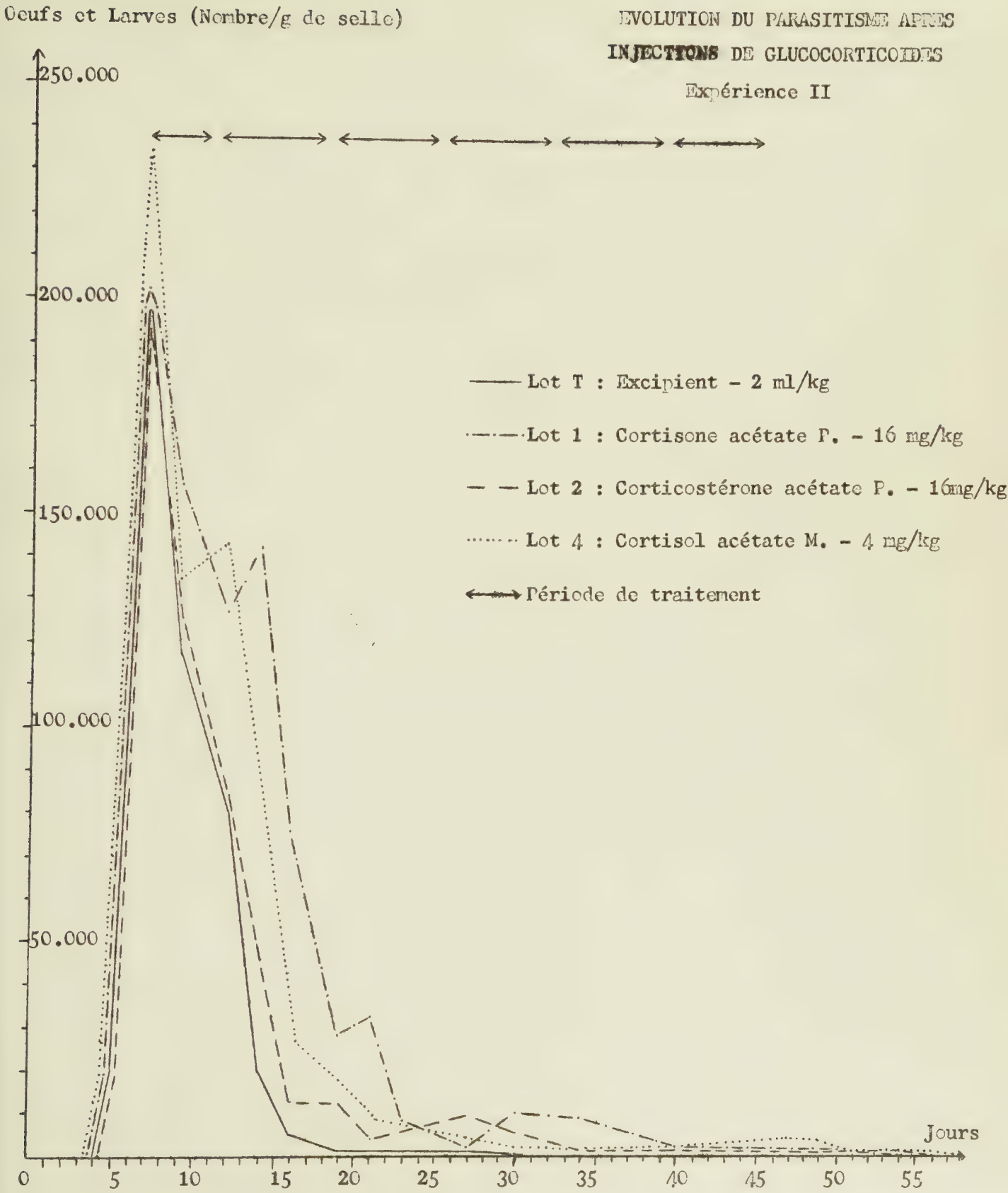
Temps (Jours)	Nombre d'oeufs et de larves par gramme de selle					
	Excipient	Cortisone A.P.*	Corticostérone A.P.*		Cortisol A.M.*	
	2 ml/kg	16 mg/kg	16 mg/kg	40 mg/kg	4 mg/kg	8 mg/kg
	Lot T	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
4	0	0	0	0	0	0
5	20.000	19.000	18.000	19.000	19.000	18.000
7	196.400	202.400	193.000	225.400	234.200	209.800
9	117.400	156.200	125.400	155.400	133.200	164.800
11	- - -					
12	80.400	126.400	84.000	157.200	142.800	187.600
14	21.200	142.000	45.800	136.600	90.600	132.000
16	5.000	75.800	12.400	93.000	27.000	147.000
18	- - -					
19	1.000	28.000	12.000	207.800	15.000	81.600
21	400	32.000	4.000	124.400	9.000	106.000
23	200	8.200	5.400	177.000	7.600	125.200
25	- - -					
27	600	2.000	9.600	165.200	4.000	105.000
30	0	10.000	5.200	194.400	2.000	122.200
32	- - -					
34	0	9.000	800	154.000	1.200	146.200
39	- - -					
40		1.600	1.200	147.600	1.000	160.400
45	═══					
47		1.400	200	291.000	4.600	212.000
49		1.000	200	675.000	3.200	268.000
51		400	0	140.600	200	158.000
54		0	200	59.000	200	50.000
56		0	0	9.000	200	21.800
58		0	0	2.000	0	23.000
61		0	0	0	0	17.200
63				0		2.000
68						0

═══ : Début et fin du traitement,

- - - : Interruption du traitement pendant 24 heures,

* A = Acétate ; M = Micronisé ; P = Pulvérisé.

GRAPHIQUE 5

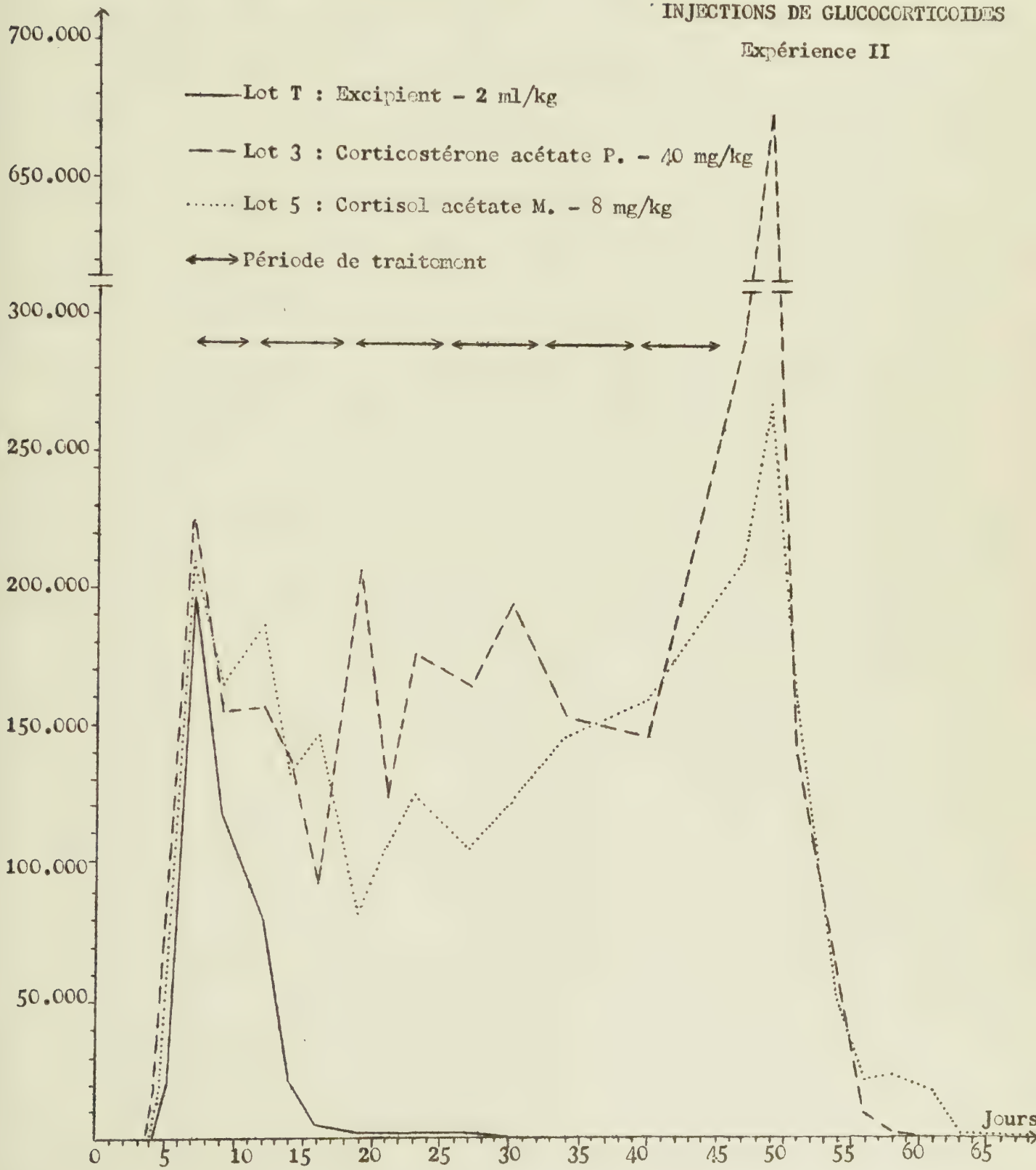

Oeufs et Larves (Nombre/g de selle)
EVOLUTION DU PARASITISME APRES INJECTIONS DE GLUCOCORTICOIDES
Expérience II
250.000
200.000
150.000
100.000
50.000
Lot T : Excipient - 2 ml/kg
Lot 1 : Cortisone acétate P. - 16 mg/kg
Lot 2 : Corticostérone acétate P. - 16mg/kg
Lot 4 : Cortisol acétate M. - 4 mg/kg
Période de traitement
Jours
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

GRAPHIQUE 5 bis

Oeufs et Larves (Nombre/g de selle)

EVOLUTION DU PARASITISME APRES INJECTIONS DE GLUCOCORTICOIDES

Expérience II



C - CONCLUSIONS DE CES DEUX EXPERIMENTATIONS.

a - Influence de la forme injectée : la forme pulvérisée est moins active que la forme micronisée, en ce qui concerne l'acétate de cortisone.

b - Influence de la nature du glucocorticoïde : la comparaison entre les trois corticoïdes est délicate à établir en raison de la disparité des formes, pulvérisée ou micronisée :

- A 8 mg/kg/jour, l'effet de l'acétate de cortisol micronisé est identique à celui de l'acétate de cortisone également micronisé ; à 4 mg/kg/jour, il est un peu supérieur.

- A 16 mg/kg/jour, l'effet de l'acétate de corticostérone pulvérisé est voisin de celui de l'acétate de cortisone également pulvérisé, bien qu'un peu inférieur (graphique 5).

Effet	A. de Cortisol micronisé	A. de Cortisone micronisé	A. de Cortisone pulvérisé	A. de Corticostérone pulvérisé
"Self-cure"		4 mg/kg/j.		8 mg/kg/j.
Parasitisme résiduel	4 mg/kg/j.		16 mg/kg/j.	16 mg/kg/j.
Absence de "Self-cure"	8 mg/kg/j.	8 mg/kg/j. 16 mg/kg/j.		40 mg/kg/j.

Donc il ressort de ces expérimentations que l'activité de ces trois corticoïdes sur le maintien du parasitisme est voisine ; l'effet de la cortisone et du cortisol semblant toutefois un peu supérieur à celui de la corticostérone. Pour empêcher le déparasitage, il faut donc imprégner l'organisme en corticoïdes à un certain niveau qui reste à déterminer.

II

EVOLUTION DES PARAMETRES SANGUINS (GLUCOCORTICOSTEROIDEMIE, LEUCOCYTOSE, EOSINOPHILIE)

Nous limitons cette étude à la corticostérone et au cortisol qui, à la différence de la cortisone, sont des hormones physiologiques du plasma du rat et dont la fluorescence en milieu acide fort, permet d'en suivre le taux plasmatique.

Ces expérimentations ont pour but d'objectiver quantitativement l'hypercorticisme simulé par le traitement et ses répercussions sur la leucocytose et l'éosinophilie.

A - INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'ACETATE DE CORTICOSTERONE.

1°) Expérience I . Après avoir précédemment déterminé la dose d'acétate de corticostérone susceptible de maintenir le parasitisme, nous allons suivre la corticostéronémie pendant toute la durée du traitement et aussitôt après, en associant cette étude à celle de la leucocytose et de l'éosinophilie.

a - Constitution des lots : 25 rats mâles, E.O.P.S., de 265 g sont répartis en 3 lots :

2 lots épreuves de 8 rats,

1 lot témoin de 9 rats.

b - Infestation (jour 0) : 15.000 larves.

c - Traitement :

. Injections intramusculaires, 6 jours sur 7, du 7ème au 26ème jour inclus.

. Les animaux épreuves reçoivent 40 mg/kg

d'acétate de corticostérone à la concentration de 20 mg/ml, par injection, dans une solution de chloramphénicol à 80 mg/100 ml comme excipient.

. Les animaux témoins reçoivent 2 ml/kg de l'excipient, par injection.

d - Les dosages de corticostérone commencent au 14ème jour de l'évolution, soit 7 jours après le début des injections, afin que la corticostéronémie soit devenue suffisamment stable.

e - Les numérations sanguines commencent au 8ème jour.

f - Résultats (Tableau VI, graphiques6 et 6 bis):

- Evolution du parasitisme : le parasitisme est maintenu à des taux élevés pendant toute la durée des injections d'acétate de corticostérone. Après arrêt du traitement, la "self-cure" survient rapidement et aboutit à l'élimination presque totale des parasites en 5 jours.

- Evolution de la corticostéronémie:

Lot témoin : le 1er dosage est fait au 14ème jour du parasitisme. Cette valeur est assez basse (11 µg/100ml), puis la corticostéronémie remonte très progressivement, surtout à partir du moment où les rats sont presque totalement déparasités. En fin d'expérimentation, elle se situe à 20,8 µg/100 ml (41ème jour).

Lots épreuves : la corticostéronémie du premier dosage (15ème jour) est élevée : 26 µg/100 ml. Puis elle augmente considérablement et reste supérieure à 30 µg/100 ml, 24 heures après la fin du traitement. La chute est ensuite rapide ; le retour à un taux normal demande au maximum trois jours. Cette décroissan-

ce est contemporaine de la "self-cure".

- Evolution de la leucocytose :

Lot témoin : elle présente un maximum qui se situe aux environs du 12ème jour (14.394 leucocytes/mm^3), puis elle diminue progressivement.

Lots épreuves : jusqu'au 12ème jour, l'évolution est comparable à celle des témoins. Puis s'amorce une chute beaucoup plus prononcée et une période de leucopénie s'installe. La leucocytose est minimum (4.786 leucocytes/mm^3) 3 jours après l'arrêt des injections, puis remonte un peu ultérieurement tout en restant inférieure à celle des témoins.

- Evolution de l'éosinophilie :

Lot témoin : on note l'existence de deux pics d'éosinophilie, le premier ayant son maximum au 12ème jour (377 éos./mm^3), le deuxième au 26ème jour (260 éos./mm^3), encadrant une dépression dont le minimum se situe au 19ème jour (49 éos./mm^3).

Lots épreuves : comme chez les témoins infestés, on enregistre le maximum du premier pic d'éosinophilie au 12ème jour (377 éos./mm^3), soit 6 jours après le début de l'administration de la corticostérone. Puis il y a un effondrement au 15ème jour (45 éos./mm^3), après quoi l'éosinophilie diminue encore mais très progressivement.

Ainsi, la dépression éosinophile des rats traités coïncide à peu près dans son début avec celle des témoins, mais est toutefois beaucoup plus rapide, plus profonde et surtout plus durable que celle des témoins. En effet, cette éosinopénie se maintient au moins jusqu'au 29ème jour, soit 3 jours après arrêt des injections ; elle présente alors un minimum très bas à 6 éosinophiles/mm^3. Ensuite, on assiste à une remontée brutale de l'éosinophilie à partir du 33ème jour.

TABLEAU VI : EVOLUTION DE LA CORTICOSTERONEMIE, DE LA LEUCOCYTOSE ET DE L'EOSINOPHILIE CHEZ DES RATS INFESTES ET TRAITES PAR L'ACETATE DE CORTICOSTERONE (40 mg/kg / INJECTION)

Expérience I

Temps (Jours)	Oeufs et larves (Nb/g de selle)		Corticostéronémie (µg/100 ml)		Leucocytose (Nb/mm3)		Eosinophilie (Nb/mm3)	
	T	E	T	E	T	E	T	E
5	32.000	30.000						
7 (	204.000	280.000						
8					11.590	12.485	323	190
9	110.000	190.000						
11 - - -								
12	61.000	205.000			14.394	13.365	377	377
14	24.000	260.000	11		13.875		273	
15				26		8.610		45
16	13.000	207.000						
18 - - -								
19	3.000	220.000	11,6		12.064		49	
20				43,3		8.340		25
21	1.800	186.000						
22				36,3		5.628		25
23	800	209.000						
25 - - -								
26 (	1.200	195.000	13		11.475		260	
27				32		6.330		15
28	200	144.000						
29				19,5		4.786		6
30	0	84.000						
33	0	6.000		17,1		6.488		72
35	0	700	18,5		9.783		211	
36				16,5		6.000		303
37	0	200						
41	0	0	20,8	15,6	11.083	6.896	131	228

T : Lot témoin infesté,

E : Lots épreuves infestés traités,

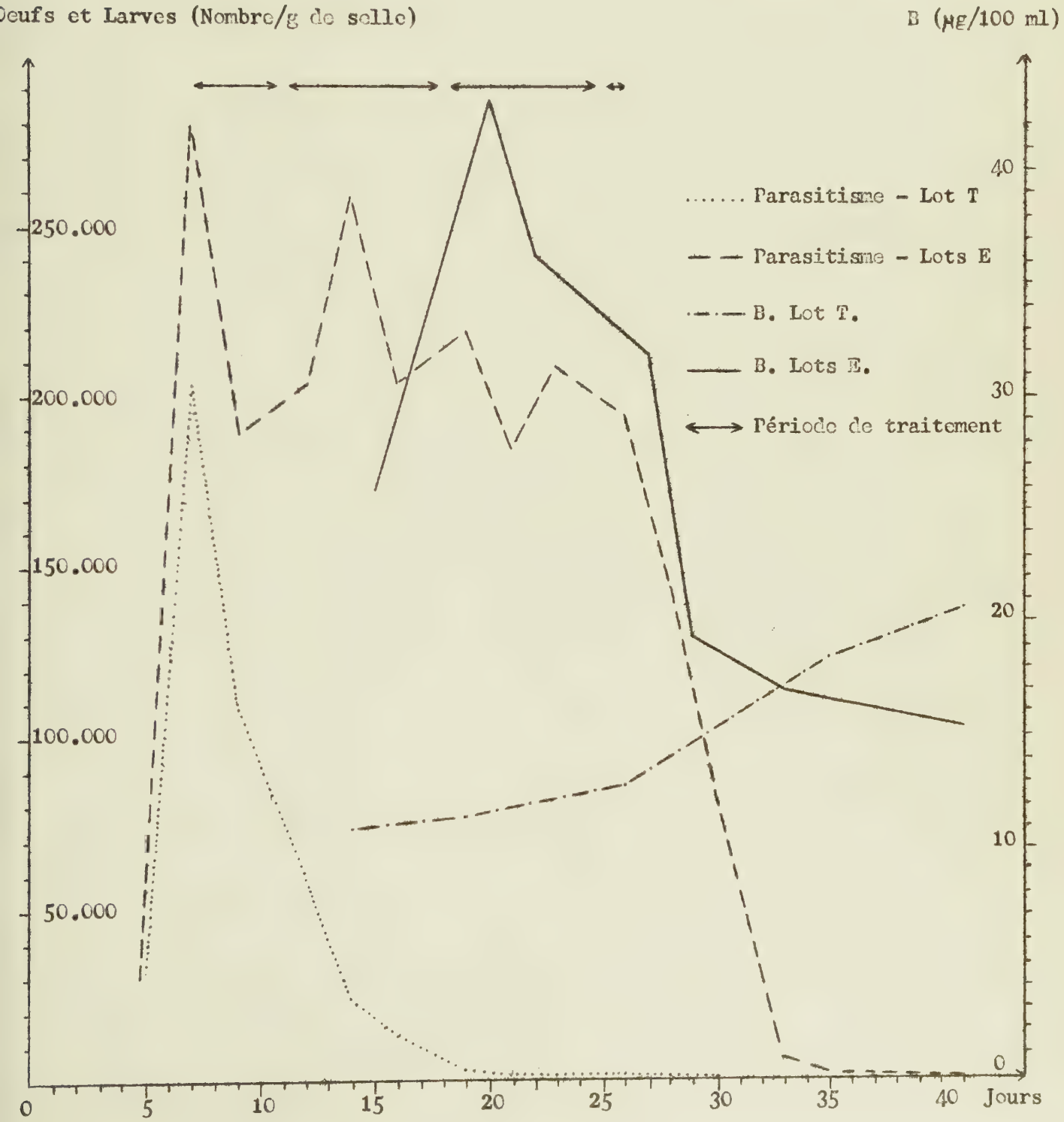
═══ : Début et fin du traitement,

- - - - -: Jour d'interruption du traitement.

GRAPHIQUE 6

TRAITEMENT PAR L'ACETATE DE CORTICOSTERONE (40 mg/kg) PARASITISME ET CORTICOSTERONEMIE (B)

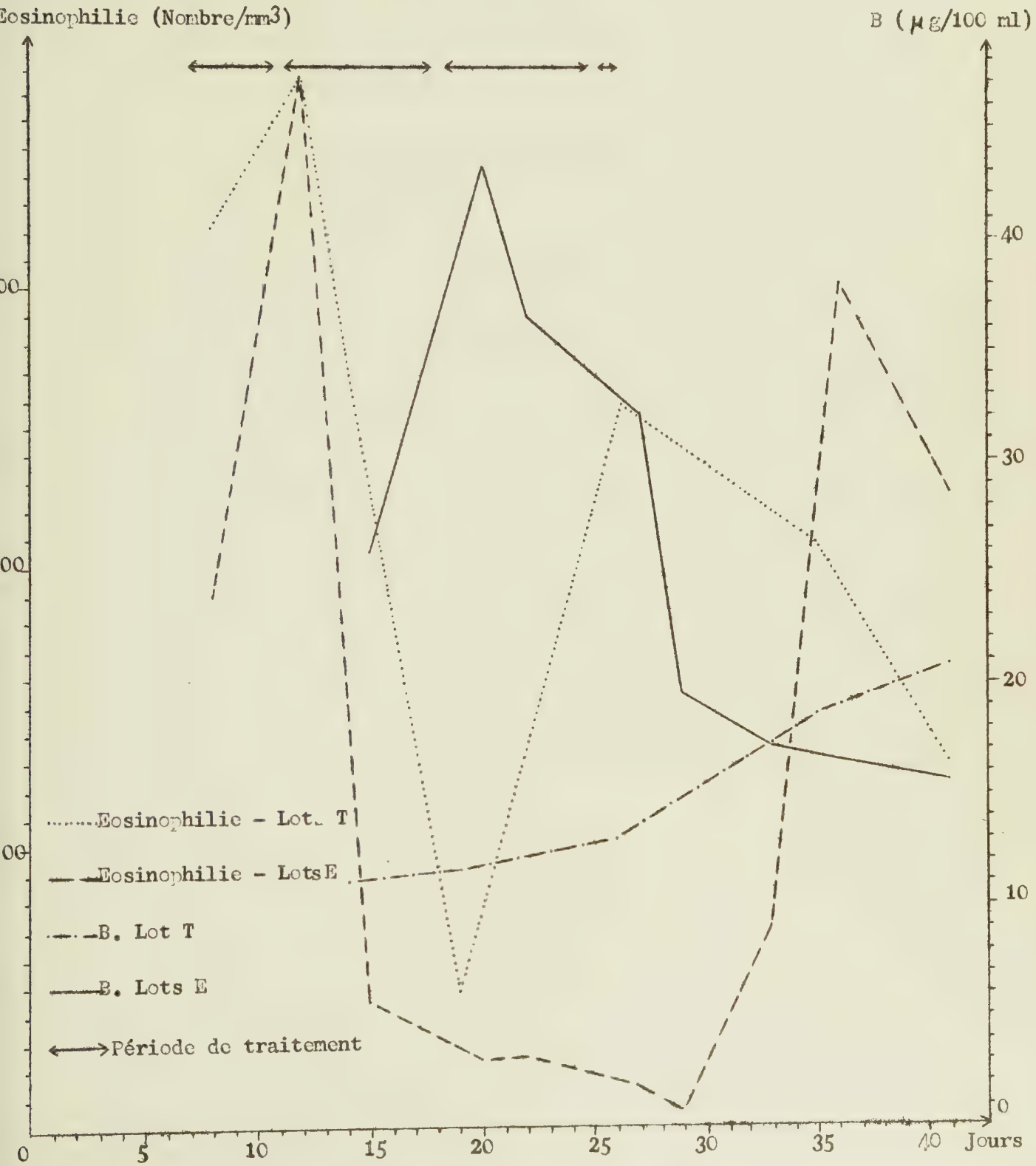
Expérience I



GRAPHIQUE 6 bis

TRAITEMENT PAR L'ACETATE DE CORTICOSTERONE (40 mg/kg) EOSINOPHILIE ET CORTICOSTERONEMIE (E)

Expérience I



2°) Expérience II . D'après les résultats précédents, l'absence de "self-cure" va de pair avec une corticostéronémie élevée. Dès que la corticostéronémie s'abaisse, la "self-cure" s'établit. Les deux phénomènes semblent donc liés. Il est donc important de bien préciser que ce déparasitage spontané est lié à la diminution du taux des glucocorticoïdes, seul paramètre sanguin vérifié dans cette expérimentation.

a - Constitution des lots : 10 rats mâles, E.O.P.S., de 240 g sont répartis en un lot épreuve de 5 rats et un lot témoin de 5 rats.

b - Infestation (Jour 0): 14.000 larves.

c - Traitement :

Lot épreuve : chaque rat reçoit 40 mg/kg d'acétate de corticostérone, dans les mêmes conditions que dans l'expérience I.

Lot témoin : chaque rat reçoit le même excipient à raison de 2 ml/kg.

Les injections, 6 jours sur 7, durent du 7ème au 45ème jour d'évolution, permettant le maintien du parasitisme à un taux élevé chez les animaux épreuves.

d - Dosages : ils commencent à partir du 47ème jour sur le lot épreuve et du 49ème jour sur le lot témoin.

e - Résultats (Tableau VII, graphique 7):

Evolution du parasitisme : alors que la coprologie est négative chez les animaux témoins au 40ème jour, la dissémination fécale des animaux épreuves est de 147.600 éléments/g de selle. Après arrêt des injections au 45ème jour, la coprologie donne les résultats les plus élevés au 49ème jour ; puis la "self-cure" se

développe rapidement, et la dissémination fécale est nulle au 61ème jour.

- Evolution de la corticostéronémie : le 1er dosage au 47ème jour montre une corticostéronémie élevée ; celle-ci s'abaisse ensuite au niveau des témoins, mais ici la chute se poursuit pour atteindre une valeur très basse (1,7 µg/100 ml) avant de remonter. Cet effondrement de la corticostéronémie après arrêt du traitement résulte vraisemblablement de sa durée prolongée, ayant pour conséquence un blocage de la sécrétion physiologique qui s'objective une fois que les corticoïdes exogènes sont éliminés.

L'abaissement de la corticostéronémie est contemporain d'une augmentation de la dissémination fécale puis de la "self-cure". Donc cette chute semble permettre le déparasitage spontané.

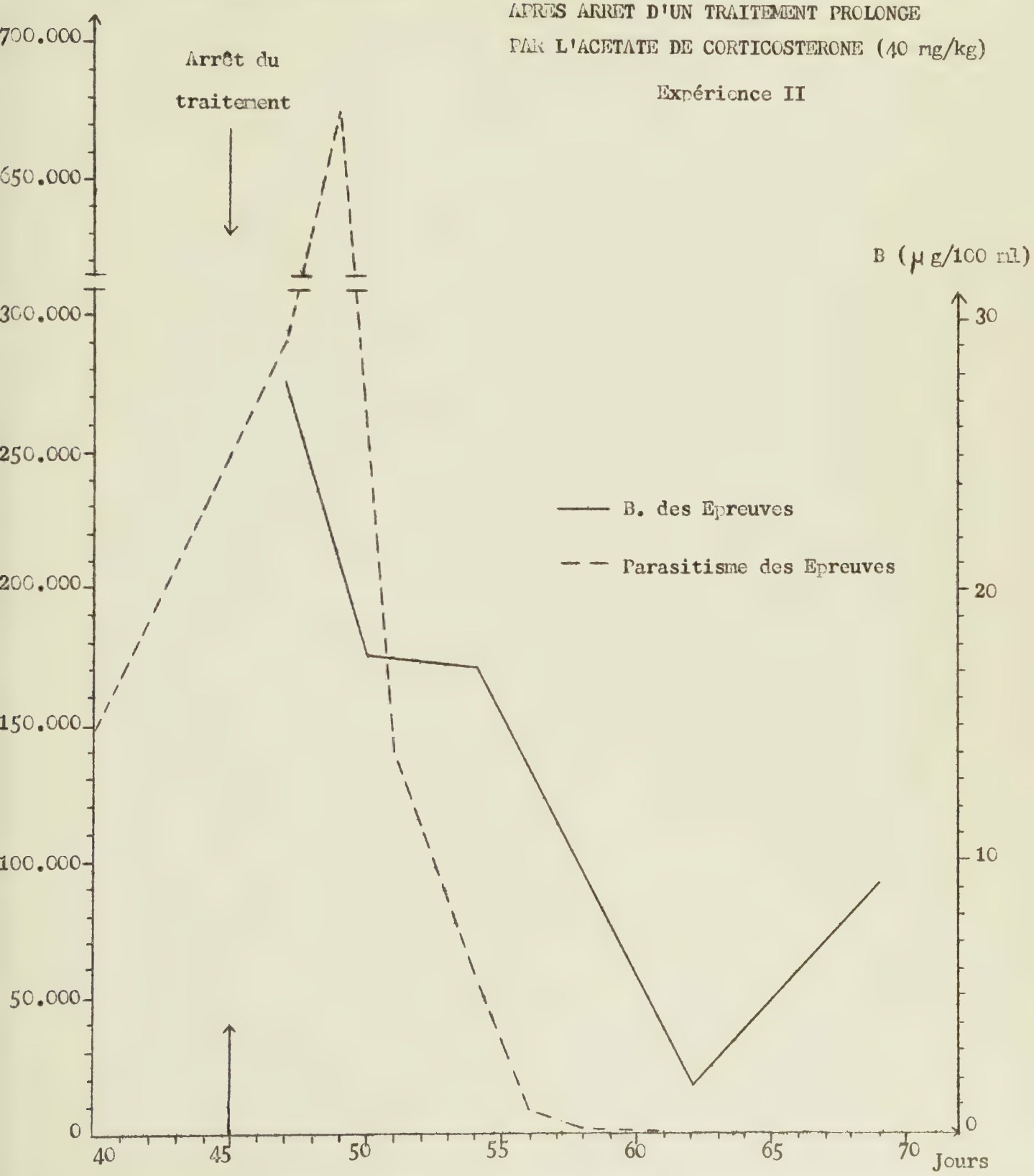
TABLEAU VII : CORTICOSTERONEMIE ET PARASITISME APRES ARRET D'UN TRAITEMENT PROLONGE PAR L'ACETATE DE CORTICOSTERONE (40 mg/kg) - Expérience II.

Temps (jours)	Témoins		Epreuves	
	Corticostérone (µg/100 ml)	Selles	Corticostérone (µg/100 ml)	Eléments (Nbre/g de selle)
40		0		147.600
45		Arrêt du traitement		
47			27,7	291.000
49	10,5			675.000
50			17,6	
51				140.600
54			17,1	59.000
56	15,3			9.000
58				2.000
61				0
62			1,7	
69			9,2	

GRAPHIQUE 7

CORTICOSTERONEMIE (B) ET PARASITISME APRES ARRET D'UN TRAITEMENT PROLONGE PAR L'ACETATE DE CORTICOSTERONE (40 mg/kg)

Expérience II



3°) Discussion (expériences I et II).

L'administration quotidienne de 40 mg/kg d'acétate de corticostérone provoque une augmentation de la corticostéronémie qui devient très supérieure à celle des témoins.

Cet état est contemporain du maintien du parasitisme à un niveau élevé, d'une leucopénie et d'une éosinopénie accentuée par rapport à l'éosinopénie relative des témoins.

Eosinopénie et leucopénie sont attendues étant donné le caractère éosinopéniant et lymphopéniant des glucocorticoïdes. Cette surcharge en glucocorticoïdes, immunodépresseurs et anti-inflammatoires à dose élevée, empêche donc les réactions de défense de l'organisme qui aboutissent au rejet des strongles. L'action de la corticostérone n'est toutefois pas immédiate, puisque hyperéosinophilie et hyperleucocytose déjà présentescontinuent à se développer pendant quelques jours alors que la "self-cure" semble débuter. L'interruption du déparasitage précède toutefois le développement de l'éosinopénie et de la leucopénie, ce qui permet de penser que ces deux facteurs ne sont pas déterminants dans l'inhibition de la "self-cure" et suggère que l'immunodépression accompagnant généralement la lymphopénie n'est pas nécessaire dans ce phénomène.

De plus, le fait que l'administration de glucocorticoïdes à une date aussi avancée que le 7ème - 8ème jour empêche rapidement le déparasitage spontané, ce qui est en accord avec les résultats d'OGILVIE (1965) et JARRETT et coll. (1967) chez Nippostrongylus brasiliensis, suggère que l'action des glucocorticoïdes, au moins à court terme, ne porte pas sur la production des anticorps antivers, mais surtout sur le déroulement de la réaction d'anaphylaxie immédiate au niveau intestinal.

L'inhibition des mastocytes par les glucocorticoïdes (CAVALLERO et coll. 1951) est vraisemblablement un facteur déterminant, car JARRETT et coll. (1967) montrent que l'augmentation des mastocytes dans la paroi intestinale qui précède normalement la

"self-cure", est supprimée par l'administration de cortisone à une dose qui empêche le déparasitage spontané. Toutefois, il est vraisemblable qu'à plus long terme cet effet est renforcé par l'immunodépression, consécutive à la lymphopénie, qui pourrait ainsi contribuer au maintien du parasitisme.

- Après arrêt du traitement, la corticostéronémie s'abaisse. Parallélement, le déparasitage s'effectue, la leucocytose remonte, alors que l'éosinopénie s'accentue tout d'abord, puis fait place à une hyperéosinophilie, donnant un deuxième pic, retardé par rapport à celui des témoins.

Dans l'expérience I, à la différence de l'expérience II, la chute de la corticostéronémie est beaucoup moins importante, celle-ci revenant seulement au niveau des témoins. Le retour à une corticostéronémie normale est donc suffisant pour permettre à la réaction de "self-cure" de se développer.

On peut noter une autre différence dans l'expérience I ; avant le déparasitage spontané, il n'y a pas d'augmentation préalable de l'élimination des oeufs et des larves. Ces deux modifications sont vraisemblablement dues au fait que la période d'injection d'acétate de corticostérone a été plus courte, avec pour conséquences :

- une mise au repos des surrénales moins longue et facilement réversible, expliquant l'absence d'hypocorticostéronémie profonde ;
- une absence d'inhibition partielle de l'ovogénèse ou une accumulation moins importante des oeufs dans la paroi intestinale, expliquant l'absence de pic de dissémination fécale précédant la "self-cure".

4°) Conclusions (Expériences I et II).

L'injection d'acétate de corticostérone (40 mg/kg/jour) à partir du 7ème jour de parasitisme provoque une phase d'hypercorticostéronémie associée à un maintien du parasitisme, une leucopénie, une éosinopénie. L'arrêt du traitement voit la corticostéronémie diminuer, les deux autres paramètres sanguins s'inverser

et la "self-cure" se développer. Une chute de la corticostéronémie de valeurs élevées à des valeurs faibles ou normales est donc nécessaire au déparasitage spontané.

B - INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'ACETATE DE CORTISOL.

Après avoir précédemment déterminé la dose d'acétate de cortisol susceptible de maintenir le parasitisme, nous allons suivre l'évolution des glucocorticoïdes plasmatiques et à un degré moindre la leucocytose et l'éosinophilie.

1°) Expérience I. Elle a pour but de voir si, après arrêt d'un traitement prolongé par l'acétate de cortisol, l'évolution est semblable à celle précédemment décrite pour la corticostérone, c'est-à-dire si à un maintien du parasitisme est associée une hyperglucocorticoïdémie et si à la "self-cure" est associée une chute de la glucocorticoïdémie.

a - Constitution des lots : 10 rats mâles, E.O.P.S., de 240 g sont répartis en un lot épreuve de 5 rats et un lot témoin de 5 rats.

b - Infestation (jour 0) : 14.000 larves.

c - Traitement :

Lot épreuve : chaque rat reçoit 8 mg/kg d'acétate de cortisol par injection, à la concentration de 10 mg/ml, dans une solution de chloramphénicol à 80 mg/100 ml comme excipient.

Lot témoin : chaque rat reçoit 2 ml/kg d'excipient.

Les injections, 6 jours sur 7, durent du 7ème au 45ème jour d'évolution, permettant le maintien du parasitisme à un taux élevé chez les animaux épreuves.

d - Dosages hormonaux : ils commencent à partir du 48ème jour pour le lot épreuve et à partir du

49ème jour pour le lot témoin. Les résultats sont exprimés en μ g de corticostérone / 100 ml, sans préjuger de la nature du glucocorticoïde dosé qui peut ne pas être la corticostérone, puisqu'on injecte du cortisol.

e - Résultats (Tableau VIII, graphique 8) :

- Evolution du parasitisme : alors que la coprologie est négative au 40ème jour chez les animaux témoins, la dissémination fécale des animaux épreuves est de 160.400 éléments/g de selle.

Après arrêt des injections au 45ème jour, la coprologie donne les résultats les plus élevés au 49ème jour ; puis la "self-cure" se développe et la dissémination fécale est nulle au 68ème jour.

- Evolution de la glucocorticoïdémie : le 1er dosage au 48ème jour montre une glucocorticoïdémie basse par rapport aux témoins. Ce taux se maintient pendant 48 h, puis remonte en présentant des fluctuationsde grande amplitude.

f - Discussion : pendant la période où la glucocorticoïdémie est basse puis remonte au niveau des témoins, on assiste à une augmentation temporaire de l'élimination des oeufs et des larves, suivie du déparasitage. Devant cette évolution des glucocorticostéroïdes totaux, totalement opposée à celle constatée dans les deux expériences précédentes et se traduisant par le même effet du point de vue de l'évolution du parasitisme, le problème est de savoir si on a une baisse réelle de la corticostéronémie de départ, par blocage de la sécrétion des glucocorticostéroïdes, ou si la corticostérone n'est pas plus ou moins remplacée par le cortisol injecté, corticoïde beaucoup moins

fluorescent. Le taux des glucocorticoïdes totaux serait alors beaucoup plus élevé que ne l'indique le dosage.

Cette augmentation du taux des glucocorticoïdes totaux, qui se développe après arrêt des injections d'acétate de cortisol, ne peut être attribuée qu'à la corticostérone, la reprise de sa sécrétion étant insuffisante pour compenser l'effet de l'élimination du cortisol et empêcher le déparasitage spontané.

Il apparaît donc nécessaire de déterminer la nature des glucocorticoïdes plasmatiques après injection de cortisol.

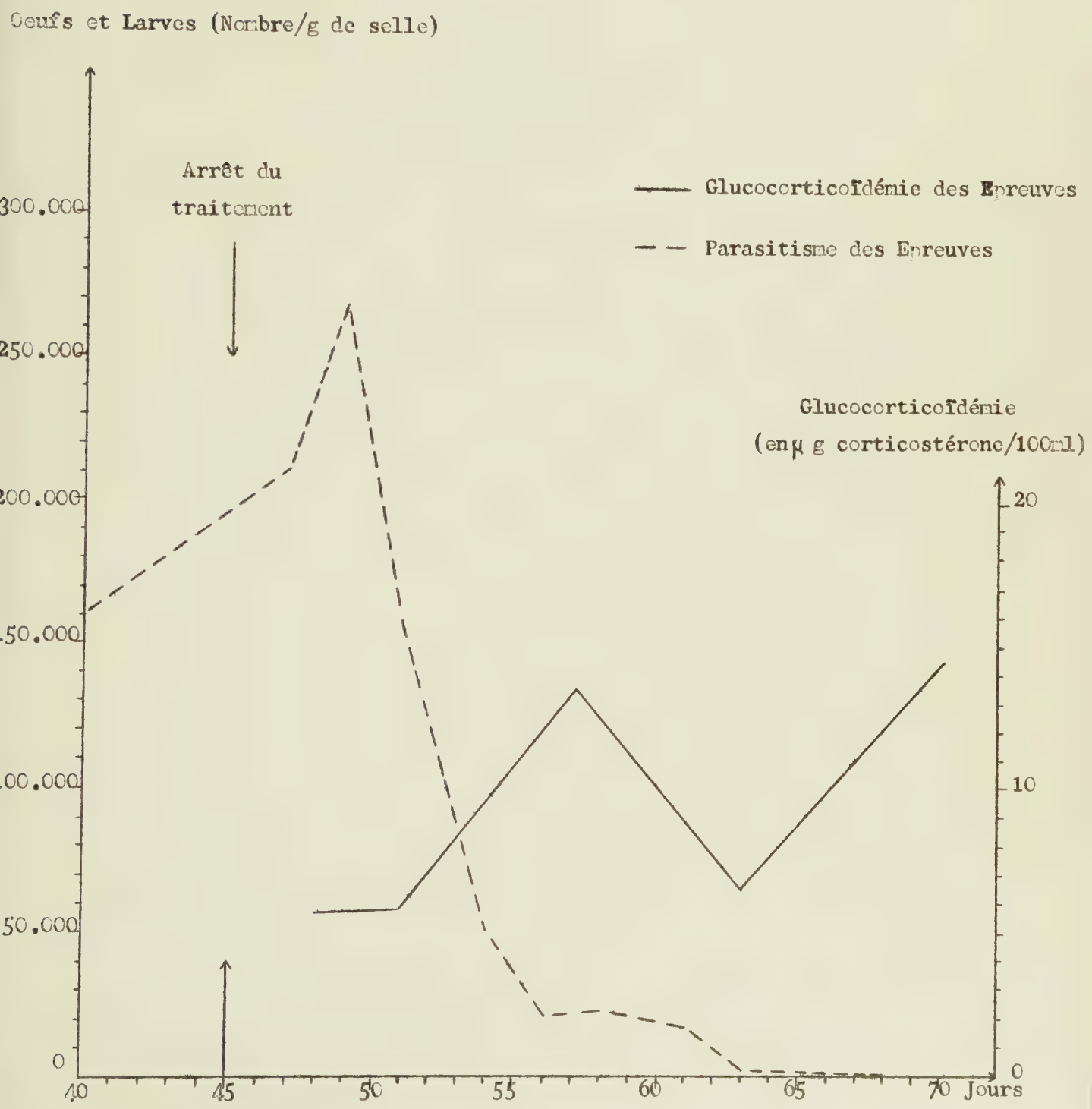
TABLEAU VIII : EVOLUTION DE LA GLUCOCORTICOIDEMIE ET DU PARASITISME APRES ARRET D'UN TRAITEMENT PROLONGE PAR L'ACETATE DE CORTISOL (8 mg/kg/injection) - Expérience I.

Temps (jours)	Témoins		Epreuves	
	Corticostéronémie (µg/100 ml)	Selles	Glucocorticoïdémie (µg/100 ml de corticostérone)	Eléments (Nbre/g de selle)
40		0		160.400
45		Arrêt du traitement		
47				212.000
48			5,7	
49	10,5			268.000
51			5,8	158.000
54				50.000
56	15,3			21.800
57			13,5	
58				23.000
61				17.200
63			6,5	2.000
68				0
70			14,5	

GRAPHIQUE 8

GLUCOCORTICOIDEMIE ET PARASITISME APRES ARRET D'UN TRAITEMENT PROLONGE PAR L'ACETATE DE CORTISOL (8mg/kg)

Expérience I



2°) Expérience II. Cette expérimentation a surtout pour but de déterminer la nature et le taux des glucocorticoïdes présents dans le plasma, afin d'éclaircir le problème posé par l'évolution particulière de l'apparente corticostéronémie, lors de l'expérience I. Au niveau de la leucocytose et de l'éosinophilie, nous tenons seulement à vérifier le caractère leucopéniant et éosinopéniant du glucocostïcoïde.

a - Constitution des lots : 30 rats mâles, E.O.P.S., de 200 g sont répartis en 3 lots de 10 rats.

- 2 lots épreuves,
- 1 lot témoin.

b - Infestation (Jour 0): 13.400 larves.

c - Traitement : il dure du 7ème au 19ème jour, inclus. Les injections, 6 jours sur 7, ont lieu dans les mêmes conditions que celles précédemment décrites.

Lot épreuve : chaque rat reçoit d'abord 8 mg/kg d'acétate de cortisol par injection, en suspension à 10 mg/ml dans une solution de chloramphénicol à 80 mg/100 ml, puis 12 mg/kg en suspension à 15 mg/ml, à partir du 15ème jour.

Lot témoin : chaque rat reçoit l'excipient à raison de 0,8 ml/kg par injection.

d - Déterminatinns analytiques :

. Glucocorticostéroïdes plasmatiques : à la technique de dosage habituelle, qui dans un cas est réalisée avec des étalons de cortisol, nous associons une séparation chromatographique en couche mince des glucocorticoïdes plasmatiques.

Ces déterminations des corticostéroïdes commencent au 13ème jour pour les témoins et au 16ème jour pour les épreuves afin que l'équilibre hormonal des animaux soit réalisé.

. Le contrôle de l'éosinophilie et de la leucocytose est fait à partir du 7ème jour. Quand il n'est pas accompagné de dosages de corticostéroïdes, il ne porte que sur 5 rats de chaque lot groupés par demi-lots testés alternativement.

c - Résultats (Tableau IX , graphiques 9 et 9 bis):

- Evolution du parasitisme : après le maximum d'élimination fécale situé au 7ème jour, une chute s'amorce chez les animaux épreuves comme dans les expérimentations précédentes, mais ici elle se prolonge de façon inhabituelle. C'est pour cela que nous augmentons les doses d'acétate de cortisol de 50 p. 100 à partir du 15ème jour. La dissémination fécale parvient alors à se stabiliser. Quarante huit heures après l'arrêt des injections (fin de l'expérimentation), la valeur de l'élimination des oeufs et des larves a légèrement diminué.

- Evolution des glucocorticostéroïdes plasmatiques:

Lot témoin : deux dosages sont réalisés au 13ème et au 19ème jour ; au 13ème jour nous vérifions qu'au niveau sanguin, la corticostérone est bien le seul glucocorticoïde décelable par chromatographie.

Lots épreuves : trois dosages sont réalisés aux 16ème, 18ème et 20ème jours de parasitisme. Dans les trois cas, les taux de glucocorticoïdes plasmatiques exprimés en corticostérone sont très bas. La chromatographie contre des étalons de cortisol et de corticostérone montre qu'il n'y a plus de corticostérone décelable. Par contre, la tache de cortisol est très nette. Aussi, lors du 3ème dosage, nous introduisons un étalon de cortisol ; alors que le taux exprimé en corticostérone est de 5,5 µg/100 ml, le taux réel de cortisol

plasmatique est de 20 µg/100 ml. Nous retrouvons donc une fluorescence relative du cortisol par rapport à la corticostérone de 27,5 %, ce qui est voisin des résultats trouvés par STEWART et coll. (1961) : 23 %. En appliquant ce pourcentage aux deux premiers dosages, on trouverait des taux de 11,6 et 10,9 µg/100 ml de cortisol.

- Evolution de la leucocytose et de l'éosinophilie : après un temps de latence, pendant lequel l'évolution est comparable à celle des témoins, l'administration d'acétate de cortisol provoque une forte éosinopénie et une leucopénie.

f - Discussion : on peut se demander pourquoi la dose de 8 mg/kg qui s'est révélée active dans l'expérience I est moins efficace dans cette expérience au point de nécessiter un surdosage.

Ceci est peut être dû au fait que le premier jour d'interruption du traitement est beaucoup plus près du début des injections que dans les expérimentations précédentes.

Il en résulterait une imprégnation hormonale insuffisante pour empêcher le début de la "self-cure" qui, une fois amorcée, ne pourrait être arrêtée que par l'administration de doses supérieures.

D'autre part, le cortisol, dont l'injection est responsable d'un blocage de la corticosurrénale qui cesse de sécréter la corticostérone, se retrouve dans le plasma à un taux réel davantage compatible avec une inhibition de la "self-cure". Toutefois, sa concentration est plus faible que celle de la corticostérone assurant le maintien du parasitisme. Donc, injecté à dose plus faible que la corticostérone, et présent

dans le plasma à un taux inférieur, il semble que le cortisol soit plus actif que la corticostérone, indépendamment de la forme injectée, micronisée ou pulvérisée. On ne peut toutefois l'affirmer avec certitude car il faudrait pour cela comparer les doses d'hormones juste suffisantes pour maintenir le parasitisme ; or les doses utilisées peuvent, au moins pour la corticostérone, être un peu supérieures.

3°) Conclusions des expériences I et II. L'administration quotidienne de 8 mg/kg (ou de 12 mg/kg) d'acétate de cortisol, entraîne un blocage de la corticosurrénale ou une quasi-disparition de la corticostérone plasmatique. Le cortisol est seul retrouvé au niveau sanguin à un taux traduisant une imprégnation hormonale empêchant le déparasitage spontané.

L'évolution de la leucocytose et de l'éosinophilie sur la période étudiée semble comparable à celle observée après injection d'acétate de corticostérone : leucopénie et éosinopénie.

TABLEAU IX : EVOLUTION DE LA GLUCOCORTICOIDEMIE (EXPRIMEE EN CORTICOSTERONE, B), DE LA LEUCOCYTOSE ET DE L'EOSINOPHILIE, CHEZ DES RATS INFESTES ET TRAITES PAR L'ACETATE DE CORTISOL (8 mg/kg, puis 12 mg/kg/injection) - Expérience II

Temps (Jours)	Oeufs et larves (Nb/g de selle)		Glucocorticoïdémie (µg B/100 ml)		Leucocytose (Nb/mm^3)		Eosinophilie (Nb/mm^3)	
	T	E	T	E	T	E	T	E
5	21.000	19.000						
7 (	158.000	176.000			9.587	11.187	140	120
9	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
10	105.000	126.000			12.275	13.850	275	285
12	38.600	97.000				10.450		288
13			12,5		11.575		225	
14	30.000	89.000		3,2		7.475		102
16	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
17	3.000	76.000						
18				3		5.893		17
19 (	3.000	78.000	14,2		9.280		56	
20				5,5				
21	1.600	62.000						

T : lot témoin infesté

E : lots épreuves infestés traités,

═══ : début et fin du traitement,

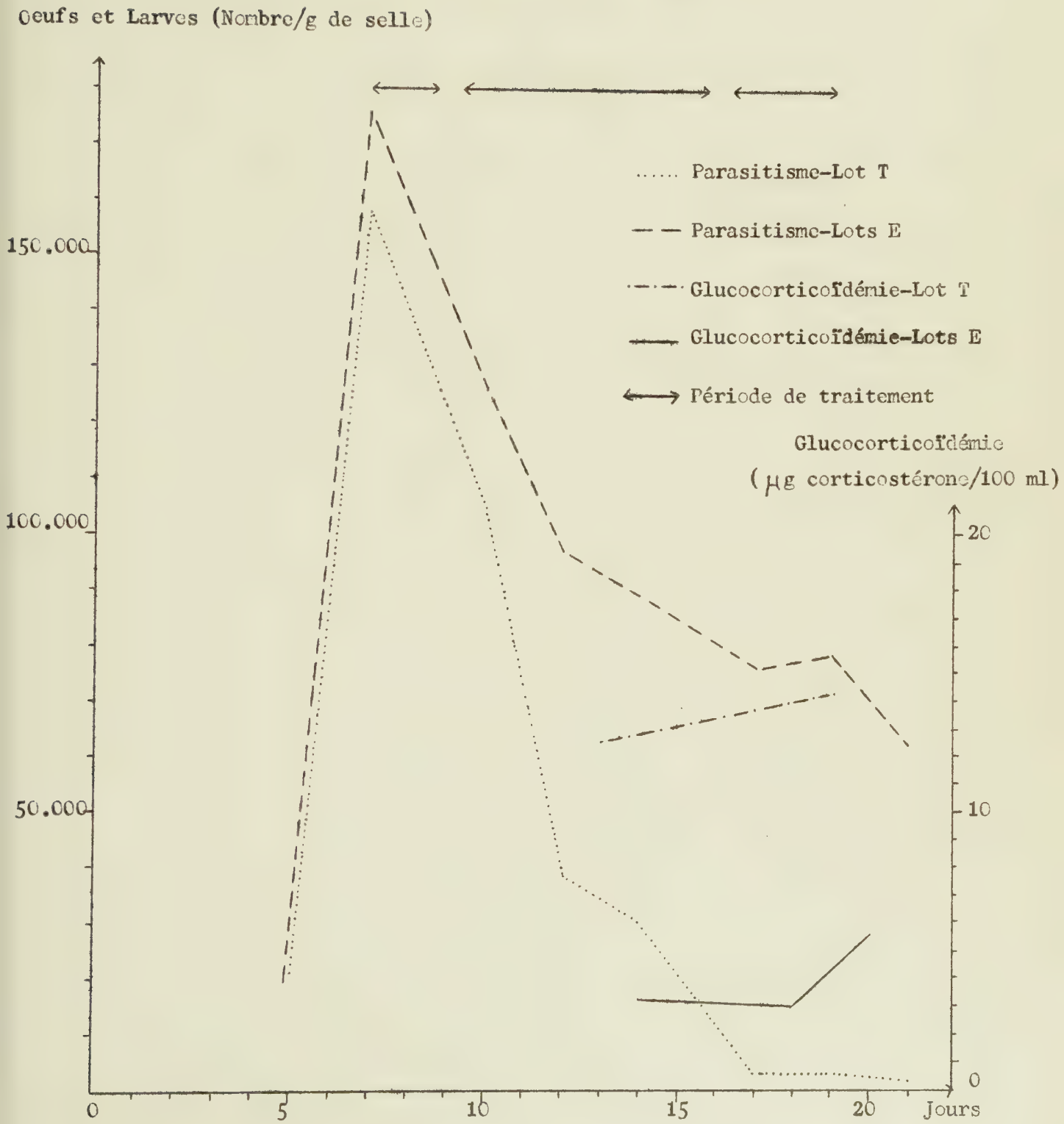
- - - - -: jour d'interruption du traitement.

GRAPHIQUE 9

TRAITEMENT PAR L'ACETATE DE CORTISOL (8 et 12 mg/kg)

PARASITISME ET GLUCOCORTICOIDEMIE

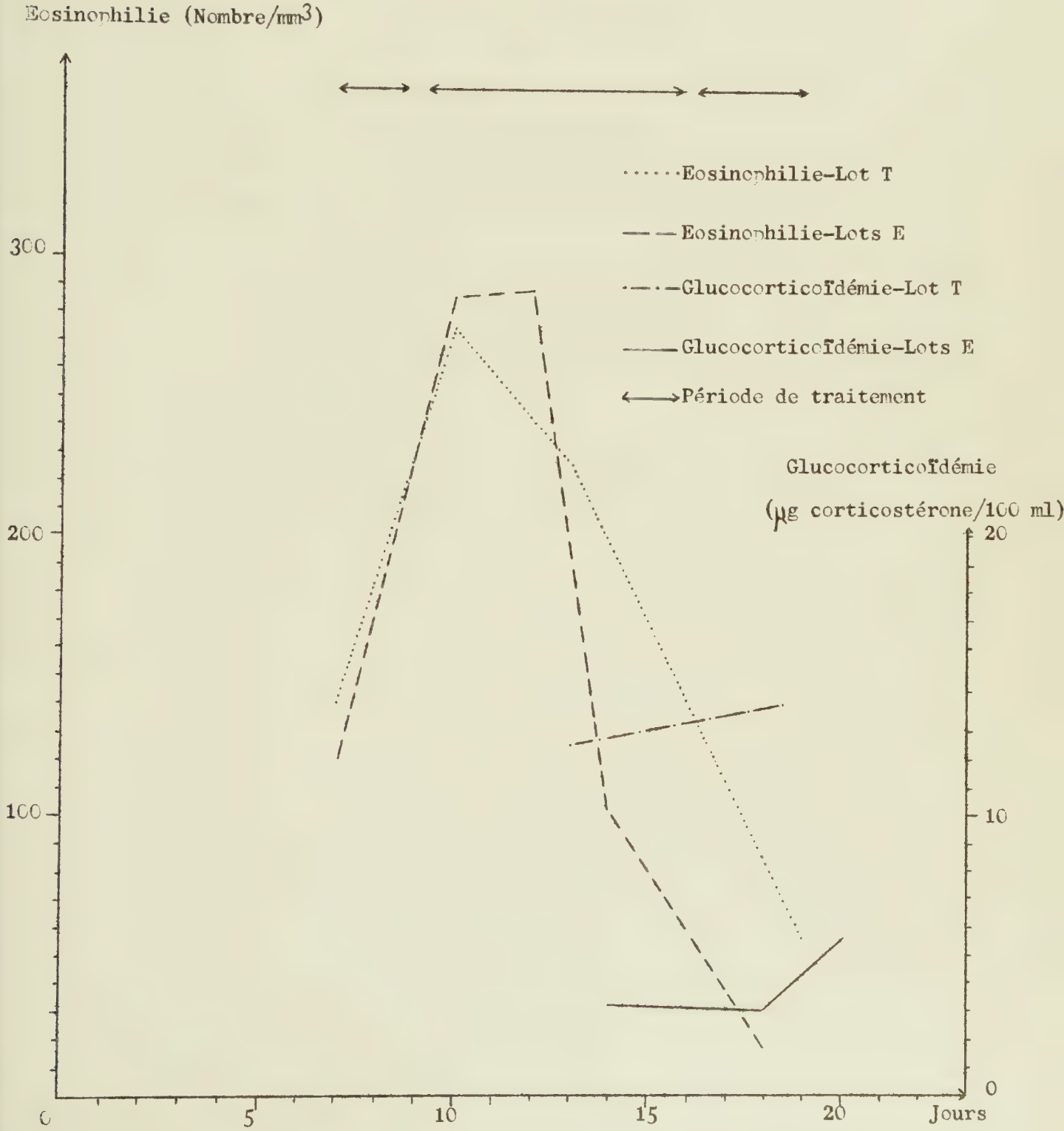
Expérience II



GRAPHIQUE 9 bis

TRAITEMENT PAR L'ACETATE DE CORTISOL (8 et 12 mg/kg). EOSINOPHILIE ET GLUCOCORTICOIDEMIE

Expérience II



CONCLUSIONS

L'établissement d'une hyperglucocorticoïdémie à un niveau suffisant, réalisé aussi bien par l'injection d'acétate de corticostérone que par celle d'acétate de cortisol, empêche le déparasitage spontané et provoque une leucopénie ainsi qu'une éosinopénie.

Toute chute de la glucocorticoïdémie consécutive à l'arrêt du traitement va de pair avec la "self-cure" et semble donc avoir un rôle déterminant dans le mécanisme du déparasitage spontané lorsque les glucocorticoïdes sont fournis à l'organisme à des doses pharmacodynamiques.

On peut alors se demander quelle part revient à la sécrétion des glucocorticoïdes dans la "self-cure" en dehors de tout traitement.

C I N Q U I E M E P A R T I E

REPERCUSSIONS DU PARASITISME SUR L'EVOLUTION DE LA CORTICOSTERONEMIE RELATIONS AVEC LA LEUCOCYTOSE ET L'EOSINOPHILIE

Après avoir montré que le maintien du parasitisme est en relation avec une hypercorticostéroïdémie provoquée par un traitement adapté et que la "self-cure" s'accompagne d'une chute de la corticostéroïdémie, nous allons étudier en détail l'évolution de la corticostéronémie plasmatique en dehors de tout traitement.

Nous y associons l'étude de la leucocytose et de l'éosinophilie, déjà abordée dans les expérimentations précédentes.

I

EXPERIENCE I

a - Constitution des lots : l'expérience porte sur 4 lots de 12 rats mâles, E.O.P.S., de 250 g ;

. 3 lots épreuves, infestés par 16.500 larves par rat (Jour 0),

. 1 lot témoin non infesté.

b - Prélèvements sanguins : ils ont lieu une fois par semaine sur chaque lot. Il y a donc 3 prélèvements hebdomadaires régulièrement espacés sur l'ensemble des animaux épreuves, chaque lot étant prélevé un jour différent de la semaine ; ce nombre de prélèvements permet de suivre de façon assez continue l'évolution des animaux épreuves tout en diminuant les possibilités d'agression dues au saignement.

c - Evolution du parasitisme : elle est suivie 2 ou 3 fois par semaine par la coprologie.

d - Résultats (Tableau X graphiques 10 et 10 bis) :

- Evolution du parasitisme chez les animaux infestés : l'élimination des oeufs et des larves commence au 5ème jour du parasitisme, atteint son maximum au 9ème jour avec 67.500 éléments par gramme de selle, puis s'abaisse très rapidement. La coprologie est négative à partir du 25ème jour.

- Evolution de la corticostéronémie :

Lot témoin : après une courte période où la corticostéronémie est voisine de 10 μ g/100 ml, celle-ci remonte pour osciller entre 13 et 18,6 μ g/100 ml. (Valeur moyenne $\pm$ Ecart type : 14,4 + 3,7 μ g/100 ml)

Lots épreuves : au 2ème jour du parasitisme, la première valeur est très élevée, à 42,4 μ g/100 ml, contrastant avec une assez faible corticostéronémie des témoins (10 μ g/100 ml). Puis le taux décroît tout en restant supérieur à celui des témoins jusqu'au 7ème jour ; après quoi la corticostérone plasmatique continue à s'abaisser régulièrement pour atteindre des taux nettement inférieurs à ceux des témoins à partir du 15ème jour. La courbe passe par un minimum au 25ème jour (8,4 μ g/100 ml), puis la corticostéronémie remonte et oscille autour des valeurs du lot témoin.

- Evolution de la leucocytose :

Lot témoin : son taux est assez constant à 8.563 $\pm$ 601 leucocytes / mm^3.

Lots épreuves : par rapport au taux relativement constant des témoins, on constate d'abord une phase de leucopénie avec un minimum au 2ème jour ; elle dure jusqu'au 5ème jour d'infestation ; puis la leucocytose remonte et, après un passage par la normale, s'installe

dans une phase d'hyperleucocytose culminant au 16ème jour et s'étalant jusqu'au 32ème jour de l'évolution.

- Evolution de l'éosinophilie :

Lot témoin : son taux est resté stable tout au long de l'expérimentation : 61 $\pm$ 27 éosinophiles/mm^3.

Lots épreuves : après un temps de latence, l'hyperéosinophilie se manifeste dès le 5ème jour et persiste jusqu'au 35ème jour d'évolution. On constate l'existence de 2 pics : le premier est le plus important ; il se situe au 11ème jour avec 995 éosinophiles/mm^3 ; il est séparé du deuxième par une profonde dépression présentant un minimum au 18ème jour avec 115 éosinophiles par mm^3, donc valeur légèrement supérieure à celle des témoins. Le 2ème pic a son maximum situé au 28ème jour avec 400 éosinophiles/mm^3. A partir du 30ème jour débute le retour à la normale.

TABLEAU X : EVOLUTION DU PARASITISME, DE LA CORTICOSTERONEMIE, DE LA LEUCOCYTOSE ET DE L'EOSINOPHILIE APRES INFESTATION PAR 16.500 larves - Expérience I

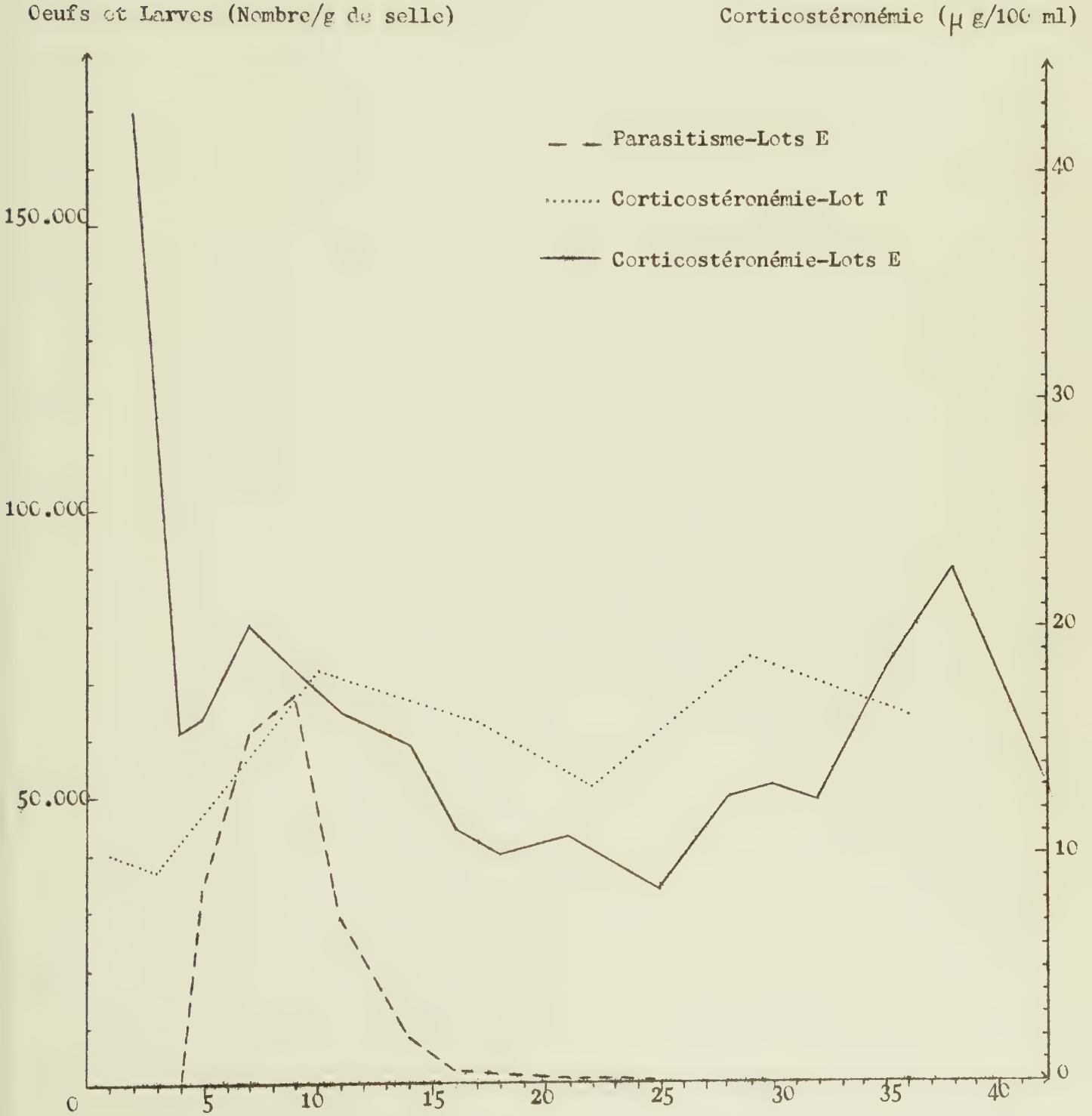
Temps (Jours)	Oeufs et larves (Nb/g de selle)	Corticostéronémie (µg/100 ml)		Leucocytose (Nb/mm³)		Eosinophilie (Nb/mm³)	
		T	E	T	E	T	E
1		10		8.420		20	
2			42,4		5.363		58
3		9,2		8.315		51	
4	0		15,2		6.791		51
5	33.400		15,9		7.836		226
7	61.000		20		8.840		325
9	67.800		18		11.240		592
10		18		8.516		52	
11	29.200		16,2		11.431		995
14	8.000		14,8		9.873		276
16	2.550		11		13.295		155
17		15,9		9.224		53	
18	1.800		10		11.338		115
21	1.000		10,8		10.891		160
22		13		8.893		91	
23	150		9,6		9.875		275
25	0		8,4		10.545		355
28			12,4		9.185		400
29		18,6		7.455		57	
30			13		8.785		277
32			12,3		11.034		180
35			18		8.730		128
36		16		9.120		102	
38			22,6		9.290		93
42			13,5		8.300		96

T : Lot témoin non infesté : E : Lots épreuves infestés.

GRAPHIQUE 10

PARASITISME ET CORTICOSTERONEMIE. INFESTATION PAR 16.500 LARVES

Expérience I

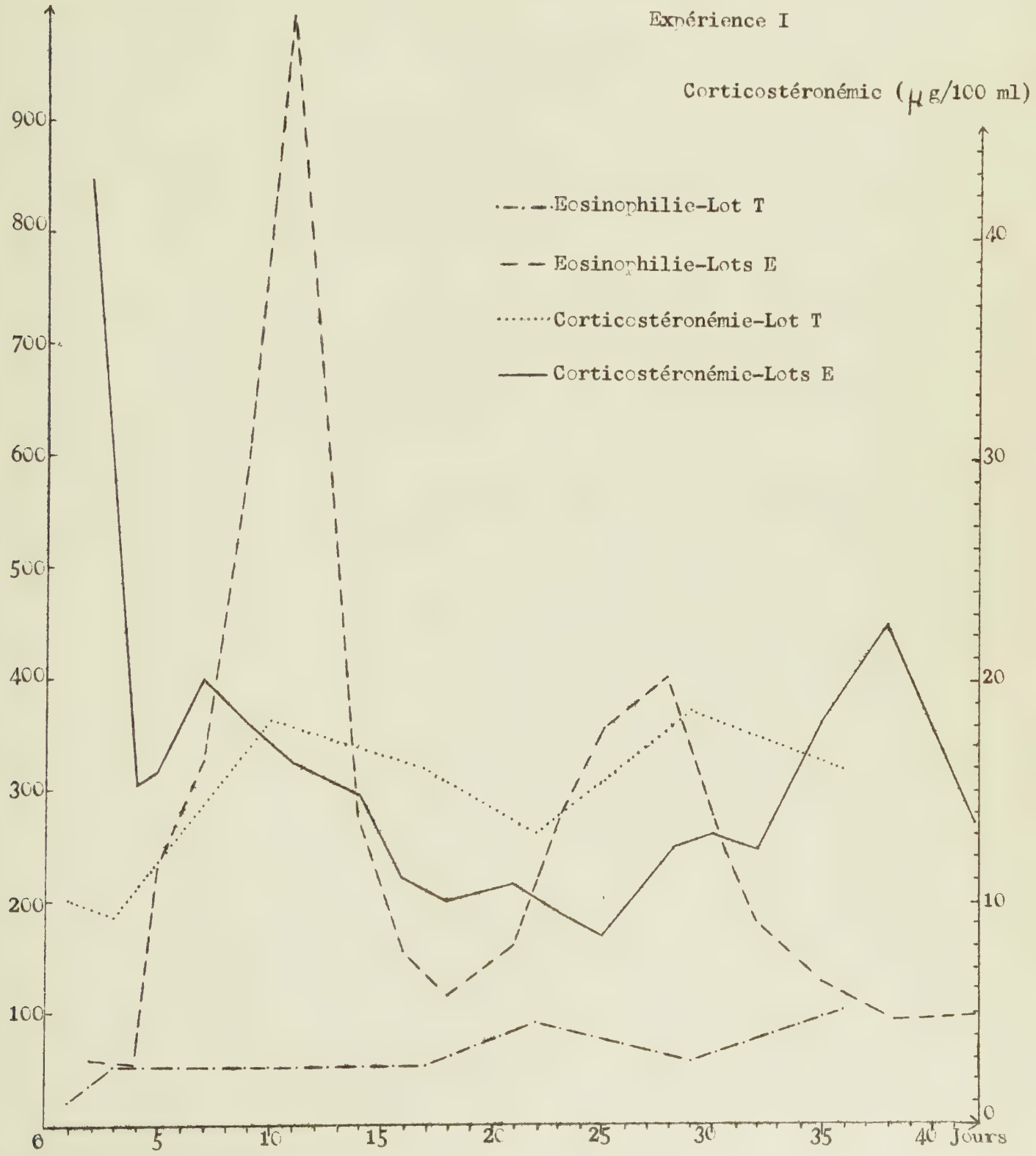


GRAPHIQUE 10 bis

EOSINOPHILIE ET CORTICOSTERONEMIE

INFESTATION PAR 16.500 LARVES

Expérience I



II

EXPERIENCE II

Cette expérimentation a pour but de vérifier la reproductibilité des résultats précédemment trouvés, tout en choisissant des dates de prélèvements qui permettent de compléter l'allure de l'évolution des différents paramètres.

a - Constitution des lots : cette expérimentation porte sur 4 lots de 10 rats mâles, E.O.P.S., de 255 g.

. 3 lots épreuves infestés par 14.000 larves par rat le jour 0.

. 1 lot témoin non infesté.

b - L'évolution des différents paramètres est suivie dans les mêmes conditions que dans l'expérience I.

c - Résultats (Tableau XI, graphiques 11 et 11 bis):

- Evolution du parasitisme chez les animaux infestés : la coprologie est positive au 5ème jour d'évolution ; la dissémination parasitaire atteint un maximum au 7ème jour avec 187.800 éléments parasitaires par gramme de selle. Puis elle décroît rapidement pour s'annuler au 23ème jour d'évolution.

- Evolution de la corticostéronémie :

Lot témoin : le taux est sensiblement constant tout au long de l'expérience avec une valeur moyenne de $15,3 \pm 1,7 \mu g/100$ ml.

Lots épreuves : la corticostéronémie est pratiquement normale 24 heures après l'infestation ce qui

n'est pas mis en évidence dans l'expérience I. Au 2ème jour d'infestation, on retrouve une valeur élevée (28,5 µg/100 ml).

Puis une chute s'amorce, mais on reste dans une phase d'hypercorticostéronémie jusqu'au 5ème jour. Ultérieurement, après une courte période où les taux sont voisins de ceux des témoins, une hypocorticostéronémie s'installe avec un minimum au 16ème jour ; cette période se prolonge jusqu'au 21ème jour. Ensuite, le taux redevient normal à partir du 23ème jour et oscille autour des valeurs du lot témoin en présentant d'assez grandes variations.

- Evolution de la leucocytose :

Lot témoin : il reste assez stable : 9.676 ± 635 leucocytes/mm^3.

Lots épreuves : le prélèvement 24 heures après l'infestation met en évidence une forte hyperleucocytose, puis survient la période de leucopénie avec un minimum au 3ème jour. Après un passage par la normale au 5ème jour, la période d'hyperleucocytose s'installe du 7ème au 25ème jour avec un maximum au 14ème jour. A partir du 28ème jour, la leucocytose est redevenue normale.

- Evolution de l'éosinophilie :

Lot témoin : il est très stable : 84 ± 18 éosinophiles/mm^3.

Lots épreuves : la courbe a toujours le même aspect avec 2 pics d'éosinophilie ayant leur sommet, le premier au 11ème jour avec 415 éos/mm^3 et le 2ème au 25ème jour avec 305 éos./mm^3.

TABLEAU XI : EVOLUTION DU PARASITISME, DE LA CORTICOSTERONEMIE, DE LA LEUCOCYTOSE ET DE L'EOSINOPHILIE APRES INFESTATION PAR 14.000 larves - Expérience II

Temps (jours)	Oeufs et larves (Nb/g de selle)	Corticostéronémie (μg/100 ml)		Leucocytose (Nb/mm3)		Eosinophilie (Nb/mm3)	
	E	T	E	T	E	T	E
1		13,7	15,7	8.984	16.155	104	80
2			28,5		8.222		135
3			25		6.880		100
4	0	12,6		9.808		100	
5	16.000		17,4		9.591		113
7	187.800		12,7		11.377		124
8	162.600		15,1		10.660		264
9	118.000		13,3		11.905		325
10		15,9		9.577		74	
11	51.600		15,6		12.120		415
14	33.200		10,1		13.735		307
16	6.000		9		11.400		77
17		16,4		10.360		64	
18	1.600		10		10.730		76
21	1.800		11,2		12.767		105
23	0		13,3		11.297		197
24		16,3		10.385		95	
25			20,9		11.274		305
28			14		8.872		227
30			12,2		8.815		162
31		16,8		8.942		64	
32			22,5		8.656		200
35			18,9		11.053		137
37			11,1		8.738		75

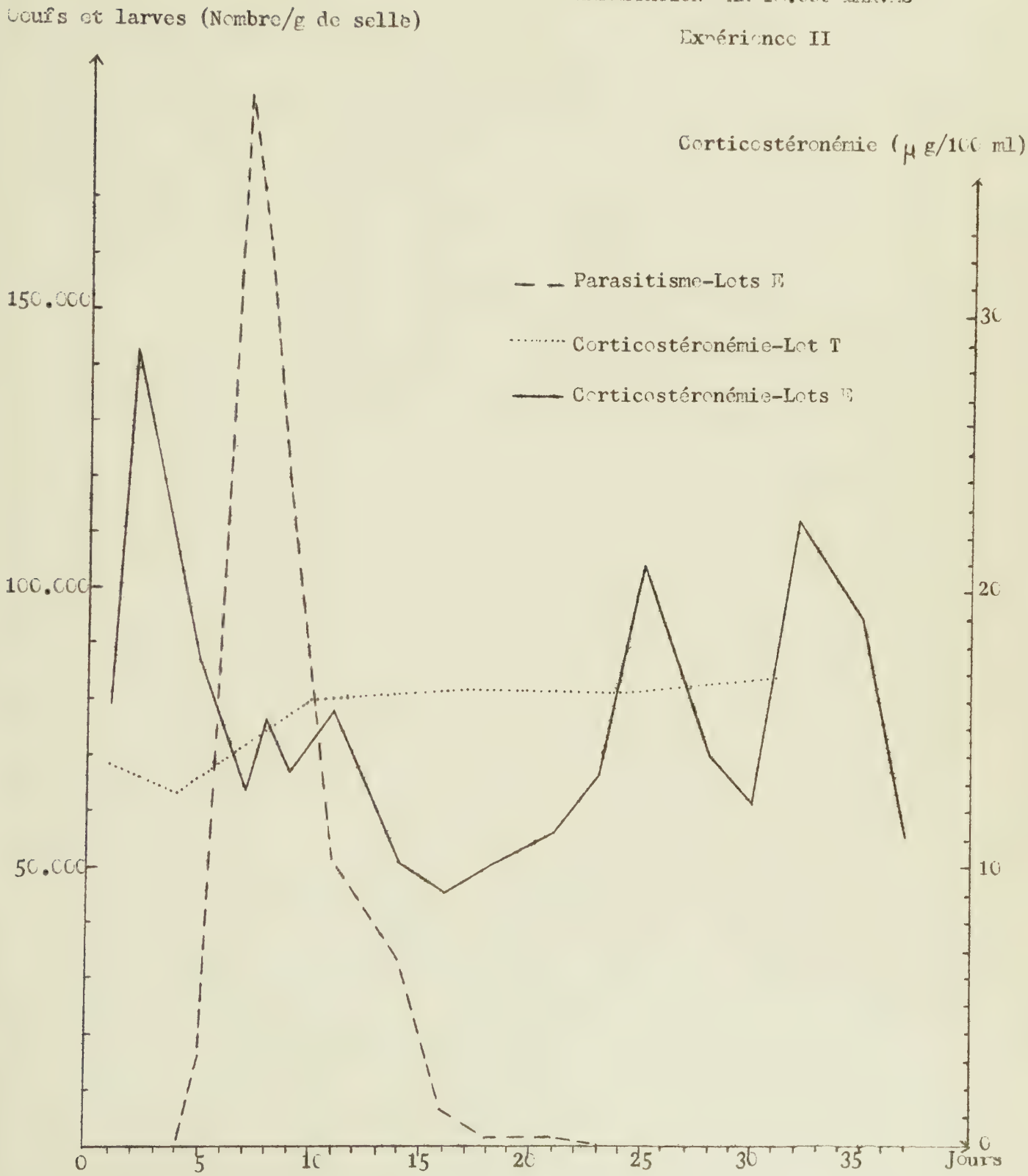
T : lot témoin non infesté ; E : lots épreuves infestés.

GRAPHIQUE 11

PARASITISME ET CORTICOSTERONEMIE

INFESTATION PAR 17.000 LARVES

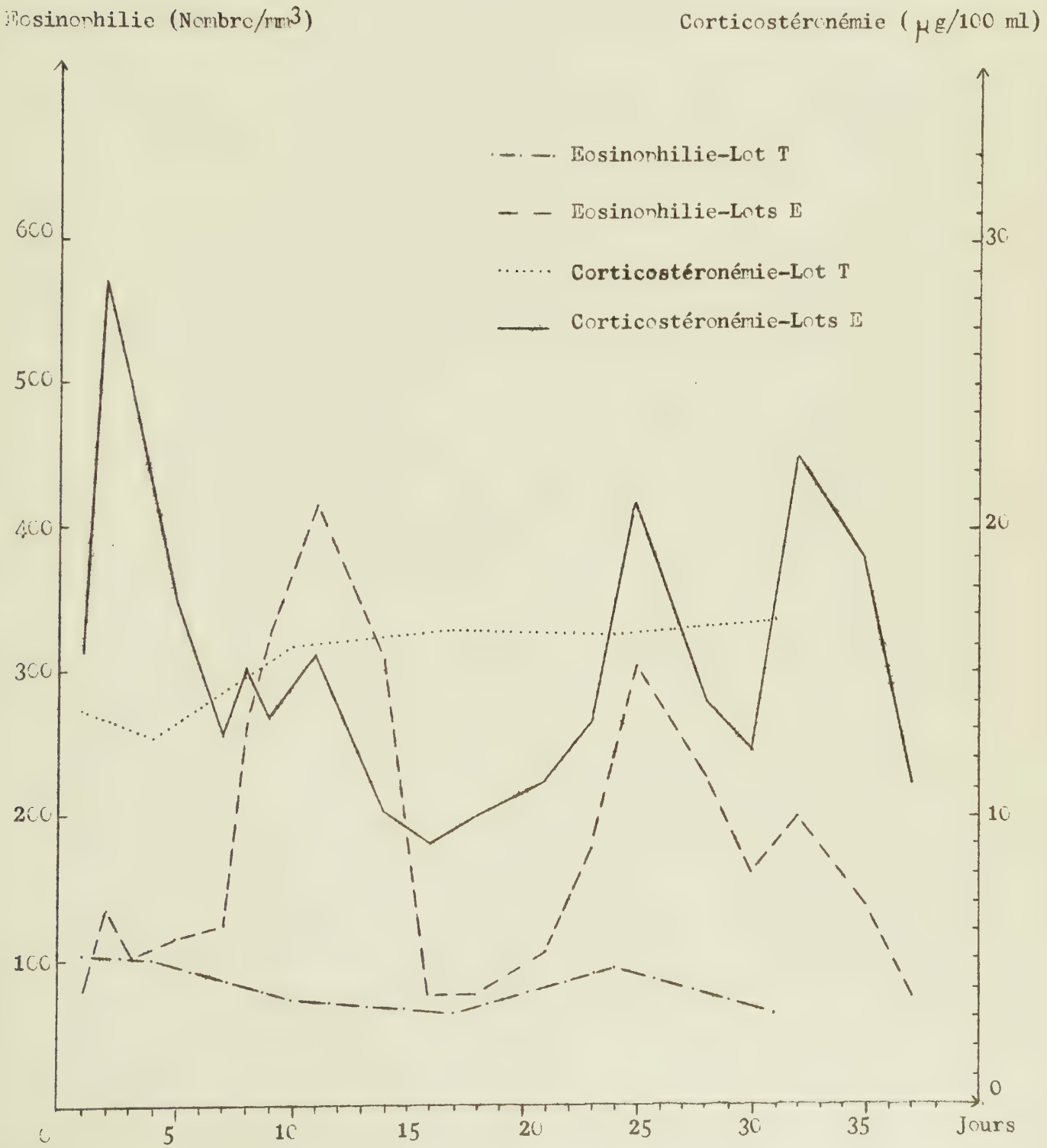
Expérience II



GRAPHIQUE 11 bis

EOSINOPHILIE ET CORTICOSTERONEMIE. INFESTATION PAR 14.000 LARVES

Expérience II



III

SYNTHESE ET DISCUSSION DES RESULTATS DONNES PAR LES EXPERIENCES I ET II

Nous ne revenons pas sur l'évolution du parasitisme étant donné que l'allure générale de la courbe de dissémination parasitaire fécale est conforme à celle décrite dans la troisième partie.

A - EVOLUTION DE LA CORTICOSTERONEMIE.

Vingt quatre heures après l'infestation, il n'y a pas de variation notable par rapport aux témoins ; par contre, on observe un pic élevé 2 jours après l'infestation.

Puis la corticostéronémie s'abaisse, mais l'hypercorticostéronémie se maintient jusqu'au 5ème - 7ème jour; on passe ensuite par une phase où les valeurs sont voisines de celles des témoins, tout en étant légèrement inférieures, période qui s'étend du 9ème au 14ème jour dans la première expérimentation, et du 7ème au 11ème jour d'infestation dans la deuxième.

Une phase de franche hypocorticostéronémie s'installe, du 16ème au 25ème jour dans le premier cas et du 14ème au 21ème jour dans le deuxième cas.

Ensuite, il y a un retour à des taux normaux ou relativement élevés par rapport à ceux des témoins, avec des variations journalières de grande amplitude.

L'analyse de ces résultats permet donc de distinguer deux phases successives : une période d'hypercorticostéronémie puis une période d'hypocorticostéronémie, dont on peut essayer de dégager la signification.

La forte hypercorticostéronémie constatée 2 jours après l'infestation est contemporaine de la phase de migration tissulaire, et plus particulièrement pulmonaire, des parasites. Ce pic doit être la traduction de l'agression provoquée par l'invasion larvaire.

Cette décharge des glucocorticoïdes dans la circulation peut être rattachée à la phase initiale du Syndrome général d'adaptation de SELYE, décrite par cet auteur sous le nom de "réaction d'alarme" et pendant laquelle il constate d'ailleurs que le cortex surrénal est augmenté de volume et présente des signes histologiques d' hyperactivité (1946). Il démontre que ce phénomène, aspécifique, a pour effet la mise en jeu de toute une série de réactions de défense non spécifiques de l'organisme.

Cette hypercorticostéronémie très élevée est fugace, mais elle se maintient, plus atténuée, pendant la période de maturation des femelles parthénogénétiques, jusqu'à l'apparition des oeufs dans les selles.

La phase suivante est caractérisée par une hypocorticostéronémie par rapport aux témoins. Elle montre tout d'abord des taux voisins de ceux des témoins pendant la période où l'ovogénèse est à son maximum et au début de la diminution de celle-ci. Puis la corticostéronémie s'abaisse considérablement pendant la période où l'élimination des oeufs et des larves diminue fortement ; cette période coïncide à peu près avec l'expulsion des adultes, celle-ci étant décalée par rapport à la chute de l'ovogénèse qui la précède légèrement.

Cette deuxième phase qui voit l'organisme des rats résister à l'agression et même éliminer le parasite, coïncide avec la "phase de résistance", deuxième temps aspécifique du Syndrome général d'adaptation de SELYE.

Au cours de cette période de résistance, nettement moins analysée par SELYE, en l'absence de moyens biochimiques analytiques, celui-ci n'insiste plus sur la notion d'une hyperactivité corticosurré-

nalienne : si ce n'est pour signaler qu'elle semble diminuée sinon supprimée. Cet auteur note d'ailleurs que les animaux surrénalectomisés résistent ordinairement après l'administration de doses de corticoïdes juste suffisantes pour maintenir la vie (1946).

Cette phase d'hypocorticostéronémie que nous constatons chez nos rats, semble donc être une réaction d'adaptation aspécifique de la corticosurrénale, contribuant à la résistance de l'organisme à l'agression parasitaire.

On peut alors se demander quelle est la part qui revient à cette hypoactivité corticosurrénalienne dans l'expulsion des vers.

Le mécanisme de la "self-cure" a été particulièrement étudié chez Nippostrongylus brasiliensis, Nématode voisin de Strongyloides ratti. Deux théories qui font une place importante à l'immunité sont actuellement confrontées.

La plus ancienne a été défendue successivement par URQUHART et coll. (1965), MULLIGAN et coll. (1965), BARTH et coll. (1966) et enfin par JARRETT (1970) qui distingue 3 stades dans la succession des évènements : tout d'abord, les vers produisent 3 substances :

. des antigènes qui stimulent la production d'anticorps anti-vers protecteurs ;

. un allergène qui stimule la production d'anticorps type "reagin." ;

. un stimulateur de la formation des mastocytes.

Survient alors une réaction d'anaphylaxie locale dans la paroi intestinale mettant en jeu allergène, "reagins" et mastocytes ; la dégranulation des mastocytes se traduit par une décharge d'amines vasoactives. La vasodilatation qui en résulte permet le 3ème stade en facilitant la libération des anticorps protecteurs, dans la lumière intestinale, qui vont endommager les vers avec pour conséquence leur expulsion.

Plus récemment cette théorie a été réfutée par OGILVIE et coll. (1971) ainsi que par JONES et coll. (1971). Pour ces auteurs, l'expulsion des vers nécessite deux étapes : l'étape initiale et essentielle est l'action des anticorps protecteurs sur les vers qui provoquent des altérations irréversibles. Les vers endommagés sont alors sensibles à la 2ème étape qui expulse les vers. Le facteur opérant est alors la libération d'amines vasoactives, probablement. La décharge mastocytaire des amines peut être déclenchée soit par :

- l'action d'un dégranulateur produit par le ver et qui provoque une réaction inflammatoire non spécifique ;

- une réaction d'anaphylaxie locale, facteur le plus effectif dans l'immunité active.

Nous voyons donc que le mécanisme d'expulsion des vers est particulièrement controversé ; ces auteurs ne considérent que l'aspect immunologique de la "self-cure" avec mise en jeu d'anticorps protecteurs et développement d'une réaction d'anaphylaxie locale, quel que soit leur ordre d'intervention.

Si les mécanismes d'adaptation spécifiques que sont ces réactions immunologiques apparaissent comme essentiels à l'expulsion du parasite, il convient peut-être aussi de considérer les réactions d'adaptation non spécifiques et en particulier l'hypofonctionnement corticosurrénalien. On peut se demander si cette adaptation de la corticosurrénale ne vient pas préparer et renforcer la défense immunologique.

Nous avons vu que l'administration de glucocorticoïdes au 7ème jour de l'évolution parasitaire, c'est-à-dire juste avant que ne débute la "self-cure" et au début de la phase d'hypocorticostéronémie, crée une hyperglucocorticoïdémie qui se substitue donc à la phase d'hypocorticostéronémie et empêche les réactions de défense de l'organisme qui aboutissent au rejet des parasites. L'arrêt du traitement entraîne un abaissement du taux des glucocorticoïdes circulants qui va de pair avec le développement de la "self-cure" et des réactions immunitaires qui l'accompagnent. En

dehors de tout traitement, étant donnés les effets immunodépresseurs et surtout anti-inflammatoires des glucocorticoïdes, on peut concevoir que le retour à un taux bas de ceux-ci favorise la réponse immunologique et ses effets.

Il est à noter qu'une fois le parasite expulsé, la corticostéronémie reprend ses valeurs normales avec des fluctuations tendant parfois vers un hypercorticisme réactionnel.

L'évolution du taux des glucocorticoïdes apparaît donc comme un élément de la défense aspécifique de l'organisme contre une agression, ici parasitaire ; elle est susceptible d'intervenir par son augmentation brutale dans la "réaction d'alarme", mais surtout par sa diminution pendant la "phase de résistance" et d'adaptation, qui permet d'offrir un optimum d'efficacité à la réaction de défense spécifique de l'organisme.

B - EVOLUTION DE LA LEUCOCYTOSE.

Par rapport aux témoins qui montrent une certaine stabilité au cours de leur évolution, les lots infestés présentent des variations de grande amplitude.

On constate, 24 heures après l'infestation, une forte hyperleucocytose fugace, suivie d'une leucopénie au bout de 2 à 3 jours d'infestation. Puis la leucocytose remonte, passe par la normale et une deuxième phase d'hyperleucocytose s'installe et se maintient jusqu'à la fin du parasitisme.

Si la 2ème phase d'hyperleucocytose est attendue, puisque LAVIER (1955) l'a décrite comme survenant après un temps de latence et commençant son ascension avant le développement de l'hyperéosinophilie, la période qui la précède est ici très particulière avec deux phases très nettes d'hyperleucocytose, puis de leucopénie.

Le premier pic fugace d'hyperleucocytose serait la première réponse leucocytaire de l'organisme à l'agression parasitaire massive. Il doit correspondre à la mise en circulation des

importantes réserves leucocytaires immédiatement disponibles, en particulier de polynucléaires neutrophiles. SELYE (1946) note d'ailleurs que lors de la "réaction d'alarme", il apparaît une hyperleucocytose fortement neutrophile et une lymphopénie relative, voire absolue, alors que chez le rat normal la lymphocytose est très supérieure à la neutrophilie.

La période de leucopénie qui fait suite pourrait être la conséquence du caractère tissulaire de la migration parasitaire. En effet, les polynucléaires ne font que passer dans le sang pour aller dans les tissus et on peut concevoir que l'appel tissulaire est tel qu'il épuise rapidement les réserves immédiatement disponibles passées dans le sang, avec pour conséquence une leucopénie.

Ces deux premières phases qui semblent traduire la mobilisation leucocytaire aspécifique vers des foyers d'infection tissulaires, pourraient être considérées comme le reflet d'une réaction de défense aspécifique faisant partie de la "réaction d'alarme".

Pendant la "phase de résistance", la production leucocytaire se serait adaptée à l'agression entraînant une hyperleucocytose sanguine capable de satisfaire les besoins tissulaires accrûs. Il est aussi vraisemblable que cette hyperleucocytose est en relation avec la réponse immunitaire spécifique.

Les relations entre l'évolution de la corticostéronémie et celle de la leucocytose sont délicates à établir. On note que d'une façon générale les deux paramètres varient en sens inverse. Pendant la "réaction d'alarme", hypercorticostéronémie et leucopénie vont de pair et semblent faire partie toutes deux des réactions de défense aspécifiques mises en jeu rapidement, alors qu'ultérieurement, pendant la "phase de résistance", l'hypocorticostéronémie favorise les réactions de défense immunitaires spécifiques dont l'hyperleucocytose peut faire partie dans une certaine mesure.

C - EVOLUTION DE L'EOSINOPHILIE.

Les témoins sont restés d'une stabilité remarquable.

Chez les animaux infestés, l'éosinophilie commence à monter au 5ème jour de l'infestation, donc après un temps de latence, pendant lequel on ne note pas d'éosinopénie absolue caractérisée. Cette éosinophilie atteint son maximum entre le 10ème et le 12ème jour. Elle baisse ensuite pour atteindre un minimum entre le 16ème et le 18ème jour, ce minimum restant toutefois supérieur à la valeur des témoins.

Puis il y a un deuxième clocher d'éosinophilie avec un maximum vers le 25ème - 28ème jour dont la valeur est inférieure à celle du 1er pic.

On ne constate pas d'éosinopénie au moment de la décharge des glucocorticoïdes ; l'hyperéosinophilie ne commence à se manifester que lorsque l'hypercorticostéronémie a considérablement diminué. Cette hyperéosinophilie dure pratiquement tout le temps de la phase d'hypocorticostéronémie, et se prolonge même pendant une courte période après le retour à la normale de la corticostéronémie.

Il apparait donc ici aussi, en considérant le caractère éosinopéniant des glucocorticostéroïdes, qu'une hypocorticostéronémie ne peut qu'être favorable au développement d'une hyperéosinophilie. Nous avons vu que les éosinophiles ont un rôle de défense de l'organisme, et que la réponse éosinophile rentrerait dans le cadre des phénomènes immunitaires. Cette hyperéosinophilie ferait donc bien partie de la réaction d'adaptation spécifique, elle serait favorisée elle aussi par l'adaptation de la réponse corticosurrénalienne, réaction de défense aspécifique dans la "phase de résistance" de SELYE.

D'autre part, l'allure de la courbe d'hyperéosinophilie, caractérisée par deux pics encadrant une dépression, aspect que nous avons déjà noté chez les animaux témoins infestés dans les

expérimentations comportant des injections de glucocorticoïdes (4ème partie), est remarquable par sa reproductibilité. Si l'évolution d'une hyperéosinophilie présentant plusieurs pics n'est pas un fait nouveau (WEBER et RUBIN, 1958 ; BASTEN et coll. 1970a), l'importante dépression, dont le minimum n'est que légèrement supérieur à l'éosinophilie des témoins, semble caractéristique dans cette helminthose.

Le premier pic d'éosinophilie, survenant après un temps de latence est attendu, résultant vraisemblablement d'une interaction du ver avec les cellules de l'organisme, en particulier les lymphocytes (BASTEN et coll. 1970b). Cette ascension s'arrête au début du déparasitage spontané (la dissémination fécale diminuant avant le début de l'expulsion des vers). On peut supposer que cette brusque diminution de l'éosinophilie est en relation directe avec le phénomène de "self-cure". En effet, WELLS (1962) montre que la "self-cure" chez Nippostrongylus brasiliensis est caractérisée par une importante éosinophilie tissulaire et une baisse de l'histaminémie. De même URQUHART et coll. (1965) montrent que le nombre des éosinophiles augmente dans la muqueuse au moment où les vers sont éliminés. Par ailleurs, JARRETT et coll. (1967), indiquent qu'il y a une relation étroite entre une augmentation préalable dans le nombre des mastocytes de la paroi intestinale et le début de l'expulsion des vers. Dans la "self-cure" qui comporterait une phase essentielle d'anaphylaxie locale, la libération de l'histamine par dégranulation des mastocytes expliquerait l'hyperéosinophilie tissulaire. On peut émettre l'hypothèse qu'au moment de la "self-cure", il se produirait un appel tissulaire tel, qu'il serait responsable d'une forte chute de l'éosinophilie sanguine. Cette interprétation est renforcée par le fait qu'après l'arrêt des injections d'acétate de corticostérone (4ème partie), traitement ayant provoqué éosinopénie et maintien du parasitisme, la "self-cure" se développe mais l'éosinopénie s'accroît dans un premier temps. Dans les deux cas, cette chute de l'éosinophilie cesse à la fin de la "self-cure" ; l'appel tissulaire aurait fortement baissé car la réaction anaphylactique est terminée. L'éosinophilie retrouve alors des valeurs

élevées, ce qui serait dû à une production encore supérieure aux besoins, puis elle diminue à nouveau, le parasite étant éliminé.

Donc, l'aspect particulier de l'évolution de cette éosinophilie parasitaire pourrait être lié au développement d'une violente réaction d'anaphylaxie locale.

CONCLUSIONS

Une première infestation du Rat mâle adulte par Strongyloides ratti est caractérisée par un déparasitage spontané ou "self-cure".

Ce phénomène n'est pas influencé par les prélèvements sanguins, dans les limites de notre expérimentation, mais est sensible à la dose infestante. Il présente ses caractéristiques les plus accuséeslors d'une infestation massive. Celles-ci portent sur :

- l'évolution du parasitisme,
- la corticostéronémie,
- la leucocytose,
- l'éosinophilie.

1°) Le parasitisme évolue en 23 à 30 jours environ et le rejet des vers débute vers le 8ème - 10ème jour.

2°) La pénétration du parasite provoque tout d'abord une phase brève d'hypercorticostéronémie, rentrant dans le cadre de la "réaction d'alarme" du Syndrome général d'adaptation de SELYE ; ultérieurement, se développe une phase d'hypocorticostéronémie qui se prolonge jusqu'à l'élimination des parasites.

Il semblerait exister une relation entre l'hypocorticostéronémie et le déparasitage. Cette notion est appuyée par des contre-épreuves comportant l'administration de glucocorticoïdes (cortisone, cortisol et corticostérone) à dose suffisante et juste avant que ne débute le déparasitage : celui-ci est empêché par le traitement qui induit l'hypercorticisme expérimental se substituant à l'hypo-

ne se manifeste une hyperéosinophilie. Cette chute temporaire de l'éosinophilie notée aussi bien dans l'infestation naturelle qu'après arrêt du traitement semble donc bien avoir pour cause le phénomène de "self-cure" et vraisemblablement sa composante anaphylactique.

En résumé, l'étude des relations parasitisme - glucocorticoïdes chez le Rat infesté par Strongyloides ratti nous permet de considérer que le parasite agit comme un agent d'agression aspécifique sur la sécrétion des corticosurrénales. L'évolution de cette sécrétion apparaît comme un processus de défense aspécifique contribuant à l'élimination du parasite en préparant et en renforçant la défense spécifique de l'organisme parasité.

BIBLIOGRAPHIE

ABADIE S.H. 1963 - The life cycle of Strongyloides ratti. J. Parasit., 49, 241-248.

ADAM Y., JOLY P., ASCHKENASY A. 1965 - Teneur du plasma et des surrénales en corticostérone chez des rats carencés en protéines ou en certains acides aminés. C.R. Soc. Biol., 159, 294-298.

ARCHER G.T. 1969 - Mechanisms of eosinophilia and mast cell disruption in rats infested with the parasite Amplicaecum robertsi. Pathology, 1, 133-140.

ARCHER G.T., NELSON M., JOHNSTON J. 1969 - Eosinophil granule lysis "in vitro" induced by soluble antigen-antibody complexes. Immunol., 17, 777-787.

ASCHKENASY A. 1956 - Modifications quantitatives des éosinophiles sanguins après ablation de la thyroïde, des testicules ou des surrénales chez le rat. Le Sang, 27, 97-116.

ASCHKENASY A. 1957 a - Que sait-on aujourd'hui de la structure et du rôle physiologique des éosinophiles ? Introduction au symposium sur les éosinophiles. Le sang, 28, 389-399.

ASCHKENASY A. 1957 b - Le rôle des hormones dans la régulation de l'éosinophilie sanguine. Le Sang, 28, 400-446 et 485-527.

BAILENGER J., CARCENAC F., FARRAGI G., FOURRIER M.F. 1972 - Les dangers de la cortisonothérapie en pathologie parasitaire. Sem. Hôpitaux-Thérapeutique, 48, 117-128.

BARTH E.E.E., JARRETT W.F.H., URQUHART G.M. 1966 - Studies on the mechanism of the self-cure reaction in rats infested with Nippostrongylus brasiliensis. Immunol., 10, 459-464.

BASTEN A., BOYER M.H. BEESON P.B. 1970 a - Mechanism of eosinophilia. I. Factors affecting the eosinophil response of rats to Trichinella spiralis. J. Exp. Med., 131, 1271-1287.

BASTEN A., BEESON P.B. 1970 b - Mechanism of eosinophilia. II. Rôle of the lymphocyte. J. Exp. Med., 131, 1288-1305.

BEIGELMAN P.M., SLUSHER M.A., SLATER G.G., ROBERTS S. 1956 - Effect of anesthetics and collection time on corticosteroids secretion by rat adrenal. Proc. Soc. Exp. Biol., 93, 608-611.

BEZUBIK B. 1960 - Effect of cortisone on the susceptibility of hamsters and guinea pigs to the sheep and rabbit strain of Strongyloides papillosus. J. Parasit., 46, Supp., 30-31.

BOYER M.H., BASTEN A., BEESON P.B. 1970 - Mechanism of eosinophilia. III. Suppression of eosinophilia by agents known to modify immune response. Blood, 36, 458-469.

BRIGGS N.T. 1959 - The effect of cortisone on natural resistance and acquired responses of the white rat to infection with Litomosoides carinii. J. Parasit., 45, Supp., 37.

BUSH I.E. 1953 - Species differences in adrenocortical secretion. J. Endocr., 9, 95-100.

CAMPBELL W.C. 1963 - Spontaneous cure in Trichuris muris infection in albino mice and its suppression by cortisone. J. Parasit. 49, 628-632.

CAMPBELL W.C., COLLETTE J.V. 1962 - Effect of cortisone upon infection with Trichuris muris in albino mice. J. Parasit., 48, 933-934.

CAVALLERO C., BRACCINE C. 1951 - Effect of cortisone on the mast cells of the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 78, 141-143.

COKER C.M. 1954 - Effects of cortisone on established immunity to Trichinella spiralis in mice. Doct. Dis. N. Carolina.

COKER C.M. 1955 - Effects of cortisone on Trichinella spiralis infections in non immunized mice. J. Paras. 41, 498-504.

COKER C.M. 1956 - Cellular factors in acquired immunity to Trichinella spiralis as indicated by cortisone treatment of mice. J. Infec. Dis., 98, 187-197.

CROSS J.H.K.Jr. 1960 - The natural resistance of the white rat to Nematospiroides dubius and the effect of cortisone on this resistance. J. Parasit., 46, 175-185.

DALTON A.J., SELYE H. 1939 - The blood picture during the alarm reaction. Fol. Haemat., 62, 397-407.

DAUGHADAY W.H. 1956 - Evidence for two corticosteroid binding systems in human plasma. J. Lab. Clin. Med., 48, 799-800.

DAUGHADAY W.H. 1958 a - Binding of corticosteroids by plasma proteins. J. Clin. Invest., 37, 511-518.

DAUGHADAY W.H. 1958 b - Binding of corticosteroids by plasma proteins. J. Clin. Invest., 37, 519-523.

DE MOOR P., OSINSKI P., DECKX R., STEENO O. 1962 - The specificity of fluorometric corticoid determination. Clin. Chim. Acta, 7, 475-480.

DE MOOR P., RASKIN M., STEENO O. 1960 - Dosage fluorométrique des Δ_4-3 céto-11 hydroxycorticoïdes plasmatiques et urinaires libres. Ann. Endocr., 21, 479-494.

DE MOOR P., STEENO O., RASKIN M., HENDRIKX A. 1960 - Fluorimetric determination of free plasma 11-hydroxycorticosteroids in man. Acta Endocr., 33, 297-307.

EECHAUTE W. 1966 - A simple method for the separate determination of cortisol and corticosterone in plasma. Clin. Chim. Acta, 13, 785-786.

ESSELIER A.F. 1957 - Les éosinophilies d'origine allergique et les pneumonies à éosinophiles. Le Sang, 28, 447-463.

GUILLEMIN R., CLAYTON G.W., SMITH J.D., LIPSCOMB H.S. 1958 - Measurement of free corticosteroids in rat plasma : physiological validation of a method. Endocrinol., 63, 349-358.

GUILLEMIN R., CLAYTON G.W., LIPSCOMB H.S., SMITH J.D. 1959 - Fluorometric measurement of rat plasma and adrenal corticosterone concentration. A note of technical details. J. Lab. Clin. Med., 53, 830-832.

HALBERG F., ALBRECHT P., ZANDER H.A. 1954 a - Persistance of eosinophil rhythm after splenectomy in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 86, 404-405.

HALBERG F., VISSCHER M.B., BITTNER J.J. 1953 - Eosinophil rhythm in mice : range of occurence ; effects of illumination, feeding and adrenalectomy. Amer. J. Physiol., 174, 109-122.

HALBERG F., ZANDER H.A., HOUGLOUM M.W., MUHLEMANN H.R. 1954 b - Daily variations in tissue mitoses, blood eosinophils and rectal temperatures of rats. Amer. J. Physiol., 177, 361-366.

HEDNER P. 1963 - Adrenocortical activity studied by determining plasma corticosteroids. With special regard to the effect of exogenous corticotrophin. Acta Endocr., 44, Supp. 86, 1-30.

HILLS A.G., FORSHAM P.H., FINCH C.A. 1948 - Changes in circulating leucocytes induced by the administration of pituitary adrenocorticotropic hormone (A.C.T.H.) in man. Blood, 3, 755-768.

HODGES J.R., VERNIKOS J. 1959 - Circulating corticotrophin in normal and adrenalectomized rats after stress. Acta Endocr., 30 188-196.

HUDSON G. 1968 - Quantitative study of the eosinophil granulocytes. Seminars Hematol., 5, 166-186.

JARRETT E.E.E., JARRETT W.F.H., URQUHART G.M. 1968 - Immunological unresponsiveness to helminth parasites : I. The pattern of Nippostrongylus brasiliensis infection in young rats. Exp. Parasit., 23, 151-160.

JARRETT W.F.H. 1970 - Mechanism of immunological expulsion of intestinal helminths J. Parasit., 56, Suppl. : 2nd Int. Cong. Parasit., 508.

JARRETT W.F.H., JARRETT E.E.E., MILLER H.R.P., URQUHART G.M. 1967 - Quantitative studies on the mechanism of self cure in Nippostrongylus brasiliensis infections. Proceedings of the World Association for the advancement of Veterinary Parasitology ; third international conference, Lyon 1967. The reaction of the host to parasitism. In Veterinary Medical Review, ed. by E.J.L. SOULSBY, 191-198.

JONES V.E., OGILVIE B.M. 1971 - Protective immunity to Nippostrongylus brasiliensis : the sequence of events which expels worms from the rat intestine. Immunol., 20, 549-561.

KITAY J.I. 1961 - Sex differences in adrenal cortical secretion in the rat. Endocrinol., 68, 818-824.

KNIGGE K.M., HOAR R.M. 1963 - A procedure for measuring plasma finding of adrenal corticoids ; effect of acute and chronic stress. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 113, 623-627.

LAVIER G. 1955. Les éosinophilies parasitaires. Rev. Path. Gen. Comp., 55, 1280-1295.

LIPSCOMB H.S., NELSON D.H. 1960 - Dynamic changes in ascorbic acid and corticosteroids in adrenal vein blood after A.C.T.H. Endocrinol., 66, 144-146.

MAC CARTHY J.L., CORREY R.C., ZARROW M.X. 1960 - Diurnal rhythm in plasma corticosterone and lack of diurnal rhythm in plasma compound F-like material in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol., 104, 787-789.

MAKINODAN T., SANTOS G.W., QUINN R.P. 1970 - Immunosuppressive drugs. Pharmacol. Rev., 22, 189-246.

MATTINGLY D. 1962 - A simple fluorometric method for the estimation of free 11-hydroxycorticoids in human plasma. J. Clin. Path., 15, 374-379.

MONCLOA F., PERON F.G., DORFMAN R.I. 1959 - The fluorometric determination of corticosterone in rat adrenal tissue and plasma. Effect of administering A.C.T.H. subcutaneously. Endocrinol., 65, 717-724.

MULLIGAN W., URQUHART G.M., JENNINGS F.W., NEILSON J.T.M. 1965 - Immunological studies on Nippostrongylus brasiliensis infection in the rat : the "self-cure" phenomenon. Exp. Parasit., 16, 341-347.

NAHOUL K., SCHOLLER R. 1971 - Dosage fluorimétrique du cortisol plasmatique après chromatographie en couche mince. Ann. Biol. Clin., 29, 361-373.

OGILVIE B.M. 1965 - Use of cortisone derivatives to inhibit resistance to Nippostrongylus brasiliensis and to study the fate of parasites in resistant hosts. Parasit., 55, 723-730.

OGILVIE B.M., JONES V.E. 1971 - Nippostrongylus brasiliensis : a review of immunity and the host/parasite relationship in the rat. Exp. Parasit., 29, 138-177.

ORECCHIONO-EMMANUELLI A.M. 1969 - Strongyloïdose expérimentale chez le rat de laboratoire. Préparation d'un extrait antigénique purifié. Détection des anticorps tissulaires chez l'homme parasité par Strongyloides stercoralis. Thèse Pharm. Bordeaux n° 573.

PARKER J.C. 1961 - Effect of cortisone on the resistance of the guinea pig to infection with the rat nematode Nippostrongylus brasiliensis. Exp. Parasit., 11, 380-390.

PAUTRIZEL R. 1948 - Recherches expérimentales sur l'éosinophilie tissulaire provoquée par les Helminthes. Thèse Méd. Bordeaux n° 194.

PAWLOWSKI Z. 1967 - Adrenal cortex hormones in intestinal trichinellosis. I. Effect of adrenalectomy, desoxycorticosterone and glucocorticoids on the course of trichinellosis in rats. Acta Parasit. Pol., 15, 157-170.

PELLETIER G., LABRIE F. 1966 - Fluorometric method for the simultaneous determination of corticosterone and hydrocortisone in plasma. Proc. Canad. Fed. Biol. Soc., 9, 59-60.

PERON F.G. 1961 - Isolation of 18 hydroxydeoxycorticosterone from rat adrenals. Endocrinol., 69, 39-45.

PETERSON R.E. 1957 - The identification of corticosterone in human plasma and its assay by isotope dilution. J. Biol. Chem., 225, 25-38.

PORTER C.C., SILBER R.H. 1950 - A quantitative color reaction for cortisone and related 17, 21-dihydroxy-20-ketosteroids. J. Biol. Chem., 185, 201-207.

RANDERATH K. 1964 - Chromatographie sur couches minces. Edit. Gauthier Villars. Paris.

RANDOLPH T.G. 1949 - Differentiation and enumeration of eosinophils in the counting chamber with a glycol stain : a valuable technique in appraising A.C.T.H. dosage. J. Lab. Clin. Med., 34, 1696-1701.

RILEY J.F. 1955 - Pharmacology and functions of the mast cells. Pharmacol. Rev., 7, 267-277.

ROLLET A. 1968 - Contribution à l'étude du dosage fluorométrique du cortisol et de la corticostérone libres du plasma et de ses applications dans l'exploration de l'axe hypophyso-surrénalien. Thèse Pharm. Lyon n° 554.

ROMAN E. 1956 - Spécificité parasitaire de Strongyloides ratti du surmulot. Effets de la cortisone sur l'infestation d'autres rongeurs par ce Nématode. Ann. Parasit. Hum. Comp., 31, 552-571.

ROMAN E. 1959 - Sur la résistance à la réinfestation de rats parasités par le Nématode Strongyloides ratti. C.R. Soc. Biol., 153, 1795-1798.

ROMAN E. 1964 - Observatinns sur les Nématodes du genre Strongyloides parasites des rats des champs. Bulletin de l'Association des Diplomés de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy, 96, 16-22.

RYTOMAA T. 1960 - Organ distribution and histochemical properties of eosinophils granulocytes in rat. Acta Path. Microbiol. Scand., 50, Supp. 140, 1-118.

SAFFRAN M., GRAD B., BAYLISS M.J. 1952 - Production of corticoids by rat adrenals "in vitro". Endocrinol., 50, 639-643.

SANDGROUND J.H. 1925 - Speciation and specificity in the Nematode genus Strongyloides. J. Parasit., 12, 59-80.

SCEMANA M. 1967 - Détermination fluorométrique de certains corticostéroides. Ann. Pharm. Fr., 25, 38-42.

SCHWARZ E. 1914 - Die Lehre von der allgemeinen und örtlichen "Eosinophilie". Erg. all. Path. path. Anat., 17, 137

SELYE H. 1936 - A syndrome produced by diverse nocuous agents. Nature, 138, 32.

SELYE H. 1946 - Le syndrome général d'adaptation et les maladies de l'adaptation. Ann. Endocr., 7, 289-401.

SHELDON A.J. 1937 - Some experimental studies on Strongyloides ratti. Amer. J. Hyg., 25 ; 39-52.

SILBER R.H., BUSH R.D., OSLAPAS R. 1958 - Pratical procedure for estimation of corticosterone or hydrocortisone. Clin. Chem., 4, 278-285.

SPEIRS R.S., MEYER R.K. 1951 - A method of assaying adrenal cortical hormones based on a decrease in the circulating eosinophil cells of adrenalectomized mice. Endocrinol., 48 ,-316-326.

SPINDLER L.A. 1958 - The occurence of the intestinal thread-worm Strongyloides ratti in the tissues of the rat following percutaneous infection. Proc. Helminth. Soc. Washington, 25, 106-111.

STAHL F., DÖRNER G. 1964 - Spezifitätserhöhung einer einfachen fluorometrischen Bestimmungsmethode für freies cortisol und corticosteron. Acta Biol. Med. German., 13, 424-432.

STEWART G.P., ALBERT-RECHT F., OSMAN L.M. 1961 - The simultaneous fluorimetric microdetermination of cortisol and corticosterone in plasma. Clin. Chim. Acta, 6, 696-707.

SWEAT M.L. 1954 - Sulfuric acid induced fluorescence of corticosteroids. Anal. Chem., 26, 773.

SYDNOR K.L., SAYERS G. 1954 - Blood and pituitary A.C.T.H. in intact and adrenalectomized rats after stress. Endocrinol., 55, 621-636.

THOMAS H. 1970 - Quantitative investigatinns of host parasite relationship in the Strongyloides ratti infected rat. 2nd Int. Cong. Parasit. J. Parasit., 56, Supp., Sec. II, part. I, n°631.

THORN G.W., FORSHAM P.H., PRUNTY F.T.G., HILLS A.G. 1948 - A test for adrenal cortical insufficiency. J. Amer. Med. Ass., 137, 1005-1009.

THORNTON F., HUGUES E.R., KELLEY V.C., ELY R.S. 1962 - Influence of age on plasma adrenocorticosteroids in rats, rabbits and guinea pigs. Amer. J. Physiol., 202, 392-394.

URQUHART G.M., MULLIGAN W., EADIE R.W., JENNINGS F.W. 1965 - Immunological studies on Nippostrongylus brasiliensis in the rat : the role of local anaphylaxis. Exp. Parasit., 17, 210-217.

VAN DER VIES J. 1961 - Individual determination of cortisol and corticosterone in a single small sample of peripheral blood. Acta Endocr., 38, 399-406.

VAUGHN J. 1952 - The stimulation of the eosinophil leucocyte. J. Path. and Bact., 64, 91-102.

VAUGHN J. 1953 - The function of the eosinophil leucocyte. Blood, 8, 1-15.

VERCAUTEREN R., PEETERS G. 1952 - On the presence of an antihistaminicum in isolated eosinophilic granulocyte. Arch. Internat. Pharmacodyn., 89, 10-14.

WEBER T.B., RUBIN R. 1958 - The eosinophilic response to infection with the cattle lung worm, Dictyocaulus viviparus. J. Infec. Dis., 102, 214-218.

WEINSTEIN P.P. 1953 - The effect of cortisone on the development of the immune response in the White Rat to Nippostrongylus muris. J. Parasit., 39, Supp., 35.

WELLS P.D. 1962 - Mast cells, eosinophil, and histamine levels in Nippostrongylus brasiliensis infected rats. Exp. Parasit., 12, 82-101.

WERTHEIM G. 1959 - The infectivity of Strongyloides ratti for various rodent hosts. J. Parasit., 45, supp., 37.

WERTHEIM G., LENGY J. 1965 - Growth and development of Strongyloides ratti Sandground, 1925, in the albino rat. J. Parasit., 51, 636-639.

WESTPHAL U., WILLIAMS W.C.Jr., ASHLEY B.D. 1962 - Increased corticosteroid binding ("Transcortin") activity in adrenalectomized and hypophysectomized rats. Proc. Soc. Exp. Biol. 109, 926-929.

YATES F.E., LEEMAN S.E., GLENISTER D.W., DALLMAN M.F. 1961 - Interaction between plasma corticosterone concentration and adrenocorticotropin releasing stimuli in the rat : evidence for the reset of an endocrine feed back control. Endocrinol., 69, 67-80.

ZAIMAN H., INGALLS J.W.Jr., VILLAVERDE H. 1962 - Mortality and survival time of trichinized mice treated with cortisone acetate. Exp. Parasit., 12, 418-422.

Deuxième partie : Méthodes expérimentales..... p. 25

I Animaux et leur répartition par lots..... p. 26

II Mode d'infestation..... p. 27

III Contrôle du parasitisme..... p. 28

IV Numération des leucocytes et des polynucléaires éosinophiles sanguins..... p. 29

V Dosage des glucocorticostéroïdes plasmatiques..... p. 30

A) Conditions de prélèvement du sang..... p. 30

B) Dosage de la corticostérone..... p. 32

C) Dosage du cortisol..... p. 39

VI Séparation du cortisol et de la corticostérone plasmatiques..... p. 39

Troisième partie : Influence des conditions expérimentales sur l'évolution de Strongyloides ratti chez le rat..... p. 43

I Influence de la dose infestante sur le parasitisme.. p. 44

A) Détermination d'une dose infestante non létale.. p. 44

B) Evolution du parasitisme en fonction de la dose infestante..... p. 45

II Effets des prélèvements sanguins sur le parasitisme p. 54

Quatrième partie : Influence de l'administration des glucocorticoïdes sur l'évolution du parasitisme et des paramètres sanguins (glucocorticostéroïdémie, leucocytose, éosinophilie)..... p. 57

I Evolution du parasitisme..... p. 58

II Evolution des paramètres sanguins..... p. 73

A) Influence de l'administration d'acétate de corticostérone..... p. 73

B) Influence de l'administration d'acétate de cortisol..... p. 84

Cinquième partie : Répercussions du parasitisme sur l'évolution de la corticostéronémie. Relations avec la leucocytose et l'éosinophilie..... p. 96

I Expérience I..... p. 97

II Expérience II..... p.103

III Synthèse et discussion des résultats donnés par les expériences I et II..... p. 108

A) Evolution de la corticostéronémie..... p. 108

B) Evolution de la leucocytose..... p. 112

C) Evolution de l'éosinophilie..... p. 114

Conclusions..... p. 117

Bibliographie ..... p. 121

Table des Matières..... p. 132